Prețul unui abonament este de 60 de lei.
În țară, abonamentele se primesc la oficiile poștale, agențiile poștale, factorii poștali și difuzorii de presă din întreprinderi și instituții. Comenzile de abonamente din străinătate se primesc la CARTIMEX, București, Căsuța poștală 134—135 sau la reprezentanții săi din străinătate.

Manuscrisele, cărțile și revistele pentru schimb, precum și orice corespondență se vor trimite pe adresa Comitetului de redacție al revistei „Studii și cercetări de biologie — Seria botanică".

APARE DE 6 ORI PE AN

ADRESA REDACȚIEI
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR. 296
BUCUREȘTI

Studii și cercetări de BIOLOGIE

SERIA BOTANICĂ

TOMUL 20 — 1968 — Nr. 5

SUMAR

St. și cerc. biol. Seria botanică t. 20 nr. 5 p. 395—470, București, 1968.

TAXONOMIA INTUITIVĂ ŞI TAXONOMIA NUMERICĂ ÎN DELIMITAREA SUPRASPECIFICĂ A GENULUI *ALLIUM*

(Fam. *ALLIACEAE*)

DE

C. ZAHARIADI

582.572.225

In order to delimitate the supraspecific taxa of the genus *Allium* found in Romania, 21 characters and 62 states were chosen between the conservative, stable, primitive, nonadaptive ones. New or neglected characters have been added such as morphology of the ovary and seed, number of ovules, new data on the biology and morphology of the underground organs, etc. Two sections (*Rhizirideum*, *Petroprasum*) and one subsection (*Oenoprasum*) have been emended; a new one (*Chloroprasum*) has been described. Estimates of overall similarity have been attempted by means of unweighted numerical taxonomy procedures, as well as by means of indirect correlations between states, both compared to the classical intuitive method, which in no case can be neglected. The necessity of character weighting as well as that of other criteria such as physiotaxonomy and chemotaxonomy is stressed.

Genul *Allium* a fost conturat cu mult înaintea lui C. L i n n é, datorită nu numai uniformităţii structurii inflorescenţei, ci şi prezenţei uleiurilor eterice sulfurate cu miros caracteristic, precum şi folosirii unora din specii în alimentaţia omului. Numărul speciilor descrise, începînd de la L i n n é, a crescut încontinuu de la 36 în 1753 la 179 în lucrarea lui C.S. K u n t h (17) şi pînă la 350—500 în prezent.

Ţinînd seama de acest mare număr de specii, s-a simţit nevoia de a împărţi genul în taxoni mai mici, subgenuri, secţii, subsecţii sau serii.

Prima lucrare de clasificare supraspecifică a genului *Allium* este cunoscuta monografie a lui G. D o n (6), în care autorul a prezentat un sistem armonios, format din mai multe secţii, dintre care unele păstrate şi în prezent.

Au urmat numeroase lucrări floristice (4), (16), (17) etc. şi morfologice (2), (5), (13) etc., care au contribuit la îmbunătăţirea clasificării supraspecifice a genului. Cu prilejul cercetărilor întreprinse în 1952 asupra genului *Allium* în vederea publicării *Florei R.P.R.*, am studiat caracterele morfologice şi biologice ale acestui gen pe plante vii în condiţiile naturale şi în culturile experimentale, găsind cîteva caractere morfologice şi biolo-

gice noi, utile pentru delimitarea secţiilor şi subsecţiilor. Prelucrînd aceste elemente în spiritul taxonomiei intuitive, precum şi după procedeele taxonomiei numerice, s-a ajuns la următoarele concluzii :

1. ANALIZA CARACTERELOR ŞI A TIPURILOR (ATRIBUTELOR) DIFERENŢIALE *

Dintre numeroasele caractere am ales un număr de 21, fiecare cuprinzînd cîte 2—5 „tipuri diferenţiale" sau, prescurtat, „tipuri" în total 62. Aceste „tipuri" sînt indicate şi codificate în tabelul sinoptic nr. 1, iar pentru înlesnirea determinării parte dintre ele sînt prezentate grafic în figura 1.

În cele ce urmează sînt descrise mai detaliat unele dintre caracterele organelor vegetative şi florale şi tipurile acestor caractere.

1.1. *Morfologia seminţelor.* Însemnătatea morfologiei şi structurii seminţelor în taxonomie este cunoscută la multe genuri de *Liliaceae*: *Bellevalia* (9), *Ornithogalum* (30), *Gagea* (4) etc. Morfologia externă a seminţelor permite adesea o bună delimitare a unora dintre secţiile genului *Allium* şi este de neînţeles faptul că acest caracter pregnant nu a fost folosit suficient în clasificările menţionate.

Se pot deosebi cinci tipuri principale de sămînţă (fig. 2) [1]: 1) globuloase, cu hil bazal şi cu o linie ariliformă bazală (secţ. *Ophioscorodon* şi *Anguinum*); 2) rotunjite la vîrf, comprimat-ascuţite la bază, în formă de pană, cu hilul bazal şi cu o linie ariliformă bazală (secţ. *Rhizirideum*); 3) scurte şi late, raport lung./lăţ. = 1—1,6, ± anguloase pe faţa seminţei îndreptată spre peretele capsulei, cu hil lateral (secţ. *Phyllodolon*, *Cepa*, *Melanocrommyum*); 4) plan-convexe, comprimate, alungite, raport lung./lăţ. 1,6—2,0, cu hil lateral (secţ. *Codonoprasum*); 5) comprimate, triunghiulare în secţiune, alungite, raport lung./lăţ. 1,6—2, cu hil lateral (secţ. *Allium*).

Structura anatomică a seminţei este în preocupările noastre şi, după unele date obţinute pînă în prezent şi după cele din literatură, aceste caractere vor permite noi diferenţieri importante.

1.2. *Morfologia filamentelor staminale interne.* Acestea pot fi simple, uneori scurt dinţate la bază sau tricuspidate, cu dintele median anterifer.

1.3. *Morfologia şi structura ovarului.* Pe baza morfologiei şi anatomiei ovarului se pot delimita următoarele trei tipuri : *a*) ovarul la mijloc cu trei proeminenţe transversale înguste, întrerupte; glandele septale se deschid spre exterior printr-un por nectarifer mic şi neevident (fig. 3, *3*) (secţ. *Allium*); *b*) glandele septale se deschid spre exterior prin nişe adînci, caracteristice, foarte evidente (fig. 3, *2*) (secţ. *Schoenoprasum*, *Petroprasum*, *Melanocrommyum*); *c*) nişele nectarifere şi proeminenţele transversale lipsesc; porii nectariferi mici sau lipsesc (fig. 3, *1*) (secţ. *Codonoprasum*, *Cepa*, *Phyllodolon* etc.). Caracterele morfologice ale ovarului şi ale glandelor septale sînt deosebit de bine delimitate la genul

* Prin caracter se înţelege de obicei un organ sau o parte din acesta (de exemplu sămînţa), uneori un proces biologic (de exemplu blastogenie), alteori o noţiune cum-ar fi distribuţia geografică (arealul); tipul diferenţial sau „atributul" reprezintă un anumit aspect sau „status" al caracterului (de exemplu sămînţa globuloasă).

[1] Pentru determinarea secţiilor este necesar să se analizeze seminţele în preajma maturităţii, iar cele uscate să se moaie în apă rece pînă la umflarea totală.

CARACTERE	DIFERITE ASPECTE SAU „TIPURI"				
	1	2	3	4	5
NUMĂRUL DE BAZĂ	7	8	9	10	—
NUMĂRUL DIPLOID SAU POLIPLOID	14	16	24 - 32	> 32	—
SĂMÎNŢA	globuloasă, hil şi linie ariliformă bazale	rotunjită la vîrf, lat-comprimată la bază, hil şi linie ariliformă bazale	scurtă, zbîrcită, rap. lung./lăţ. = 1-1,6; hil lateral	comprimată plan convexă, alungită, rap. 2-3; hil lateral	comprimat-tricvetră, alungită, rap. 2-3; hil lateral
BLASTOGENIA	hipogee, hipocotilul alungit	hipogee, hipocotilul scurt	epigee, fără frunze adevărate în primul an	epigee, cu frunze adevărate în primul an	—
OVULE	2 colaterale	4-8 pe două rînduri	—	—	—
OVARUL	porul nectarifer lipseşte sau nu formează nişă	trei nişe nectarifere	proeminenţe ecuatoriale deasupra porului nectarifer (fără nişă)	—	—
FILAMENTE STAMINALE INTERNE	simple sau dinţate spre bază	tricuspidate	—	—	—
PERIGONUL ÎN TIMPUL ÎNFLORIRII	rotat, ± plan	conic-divergent	cilindraceu sau campanulat	piramidal	—
AXA SUBTERANĂ DIN ANUL TRECUT	platou scurt, disciform, uscat	scurt-cilindracee, uscată, adesea nesclerificată	alungit-cilindracee sclerificată şi vie	—	—
SOLZII DE ACUMULARE AI BULBULUI SAU AI LĂSTARULUI DE REÎNOIRE	un singur solz	doi solzi	mai mulţi solzi	—	—
VERNAŢIUNEA	plană	conduplicată (cutată)	pluriplicată	concavă	—
BAZA SCAPULUI	nesclerificată, în formă de foiţă comprimată	sclerificată, cilindrică	spongios-îngroşată	—	—
FORMA BULBULUI	alungit-liniară sau alungit-lanceolată	ovoidală, globuloasă sau turtită	—	—	—
FORMA ŞI SECŢIUNEA FRUNZELOR	plane, ovate sau lanceolate, ± peţiolate	plane, lat-sau îngust-liniare	îngust caniculate, pline sau fistuloase	rotunde, fistuloase	—
POZIŢIA FRUNZELOR	bazală	pseudocauliniară	—	—	—

Fig. 1. — Tabloul sinoptic al secţiilor genului *Allium* cu caracterele principale şi tipurile lor.

Tabelul nr. 1

Secțiile și subsecțiile genului *Allium*

Nr. crt.	Caracterele și tipurile (atributele) lor	Secț. *Melanocrommyum* Webb; tip: *A. atropurpureum*	Secț. *Ophioscorodon* (Wallr.) Endl.; tip: *A. ursinum*	Secț. *Anguinum* Don; tip: *A. victorialis*	Secț. *Allium*; tip: *A. sphaerocephalum*	Subsecț. *Scorodoprasum* F. Herm.; tip: *A scorodoprasum* (sin.: ser. *Scorodoprasa* (Omelcz.)	Subsecț. *Sphaerocephalum* Zoz (nomen); tip: *A. sphaerocephalum*	Subsecț. *Oenoprasum* F. Herm., Zahar. emend.; tip: *A. vineale*	Secț. *Petroprasum* F. Herm., Zahar. emend.; tip: *A. obliquum*	Secț. *Rhiziridеum* Don, Zahar. emend.; tip: *A. montanum*	Subsecț. *Rhiziridеum*; tip: *A. montanum*	Subsecț. *Albida* Omelcz.; tip: *A. albidum*	Secț. *Codonoprasum* (Rchb.) Endl.; tip: *A. flavum*	Subsecț. *Codonoprasum*; tip: *A. flavum* (sin.: ser. *Flava* Omelcz.)	Subsecț. *Paniculata* Omelcz. pr. ser.; tip: *A. paniculatum*	Secț. *Phyllodolon* (Salisb.) Prokh.; tip: *A. fistulosum* (sin.: ser. *Fistulosa* Omelcz.)	Secț. *Cepa* (Miller) Prokh.; tip: *A. cepa* (sin.: ser. *Cepacea* Omelcz.)	Secț. *Schoenoprasum* Dum.; tip: *A. schoenoprasum*	Subsecț. *Schoenoprasum*; tip: *A. schoenoprasum* (sin.: ser. *Schoenoprasa* Omelcz.)	Subsecț. *Oreiprasum* F. Herm.; tip: *A. saxatile* (sin.: ser. *Globosa* Klok.)	Subsecț. *Chloroprasum* Zah.; tip: *A. ochroleucum*	Subsecț. *Moschata* Omelcz.; tip: *A. moschatum*
I	*numărul de bază*: 1) = 7; 2)=8; 3)=9; 4)=10	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
II	*numărul diploid sau poliploid*: 1) = 14; 2) = 16; 3)=18; 4) > 18	2	1	2	2,3	2	2,3	2,3	2	2,4	2,4	2,4	2,4	2,4	—	2	2,4	2,4	2,4	2	—	—
III	*sămînța*: 1) globuloasă, hil și linia ariliformă bazale; 2) rotunjită la vîrf, lat-comprimată la bază, hil și linia ariliformă bazale; 3) scurtă zbîrcită, rap. lung./lăț. = 1—1,6, hil lateral; 4) comprimată plan-convexă, alungită, rap. = 1,6—2, hil lateral; 5) comprimat-tricvetră, alungită, rap. = 1,6 — 2, hil lateral	3	1	1	5	5	5	5	4	2	2	2	4	4	4	3	3	5	5	5	5	5
IV	*blastogenie*: 1) germinația hipogee, hipocotilul alungit; 2) germinația hipogee, hipocotilul scurt; 3) germinația epigee, fără frunze adevărate în primul an; 4) germinația epigee, cu frunze adevărate în primul an	4	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
V	*ovulele*: 1) două într-o lojă, colaterale; 2) 4—8 într-o lojă, biseriale	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
VI	*ovarul*: 1) porul nectarifer mic sau lipsește, fără nișă; 2) nișele nectarifere adînci; 3) porul nectarifer mic neevident, cu o creastă transversală întreruptă	2	1	1	3	3	3	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2
VII	*filamentele staminale interne*: 1) simple sau dințate la bază; 2) tricuspidate, avînd uneori la bază cîte un dinte suplimentar	1	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
VIII	*perigonul în timpul înfloririi*: 1) rotat (extins în stea); 2) conic divergent; 3) cilindraceu sau campanulat; 4) foliolele interne formînd o piramidă închisă, triunghiulară	1	1	3	3	3	3	3	3	1,3	3	1	3	3	3	4	1	2,3	3	2	3	2
IX	*culoarea florilor vii*: 1) albă sau albicios-verzuie; 2) gălbuie sau galbenă; 3) roz sau brunie deschis; 4) violacee sau negră-purpurie.	4	1	1	1,3,4	4	4	4,3(1)	2	2,3(1)	3(1)	2	2,3(1)	2,3	3(1)	1	1,3	2,3,(41)	4	3(1)	2	3
X	*filamentele staminale anterifere* (fără a socoti antera): 1) mai lungi decît perigonul; 2) mai scurte sau egale cu perigonul, uneori abia depășindu-l	2	2	1	1,2	2	1	1	1	1,2	1,2	1,2	1,2	1	2	1	1	1,2	2	1	1	2
XI	*stilul* (la sfîrșitul înfloririi): 1) mai lung decît perigonul; 2) mai scurt sau egal cu perigonul	2	2	1	1,2	2	1	1	1	1	1	1	1,2	1	2	1	2	1,2	2	1,2	1	2
XII	*spat*: 1) mai scurt, egal sau ceva mai lung decît inflorescența; 2) de 2—4 ori mai lung decît inflorescența	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1
XIII	*axa subterană*, porțiunea din anul trecut: 1) disciformă, uscată, sclerificată sau nu; 2) scurt-cilindracee, uscată, sclerificată sau nu; 3) alungit-cilindracee, vie, sclerificată, simplă sau ramificată, în formă de rizom	1	2	3	1	1	1	1	2	3	3	3	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2
XIV	*numărul solzilor de înmagazinare* ai bulbului sau ai lăstarului de reînnoire: 1) unul singur; 2) doi; 3) mai mulți	3	1	3	1	1	1	1	3	3	3	3	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3
XV	*vernațiunea* (sau ptyxis): 1) plană; 2) conduplicată; 3) pluriplicată; 4) concavă	4	4	3	1,2	2	1	1	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
XVI	*baza scapului* (în interiorul bulbului): 1) nesclerificată, comprimată în foiță subțire; 2) sclerificată, cilindrică; 3) spongios-îngroșată	2	1	2	2,3	2	2	3	1	2	2	2	1,2	1	2	1	1	1	1	1	1	1
XVII	*forma bulbului*: 1) alungit-liniară sau alungit-lanceolată; 2) ovoidală, globuloasă sau turtită	2	1	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	2	2	1	2	1,2	1	1	1	2
XVIII	*tunicile*: 1) cu fibre groase încrucișate în rețea; 2) membranoase, pergamentoase sau cu fibre subțiri, uneori în rețea indistinctă	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
XIX	*frunze I*: 1) pețiolate; 2) nepețiolate	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
XX	*frunze II*: 1) plane sau plan-carenate: 2) îngust-canaliculate, pline sau fistuloase; 3) rotunde, fistuloase	1	1	1	2,3	2	3	3	1	1	1	1	1,2	1,2	1,2	3	3	1,2,3	3	2	1	2
XXI	*poziția frunzelor* pe porțiunea epigee a scapului: 1) bazală; 2) pseudocauliniară, îmbrăcînd scapul pînă la 1/5—1/2	1	1	2	2	2	2	2	2	1	1	1	2	2	2	1,2	1,2	1,2	2	1,2	1,2	2

Allium; deşi au fost observate mai de mult (2), acestea nu au fost folosite în taxonomia genului decît de F. H e r m a n n (11); chiar recent, acest caracter a fost trecut cu vederea de unii cercetători, cum ar fi T. I a. O m e l e z i u k (21).

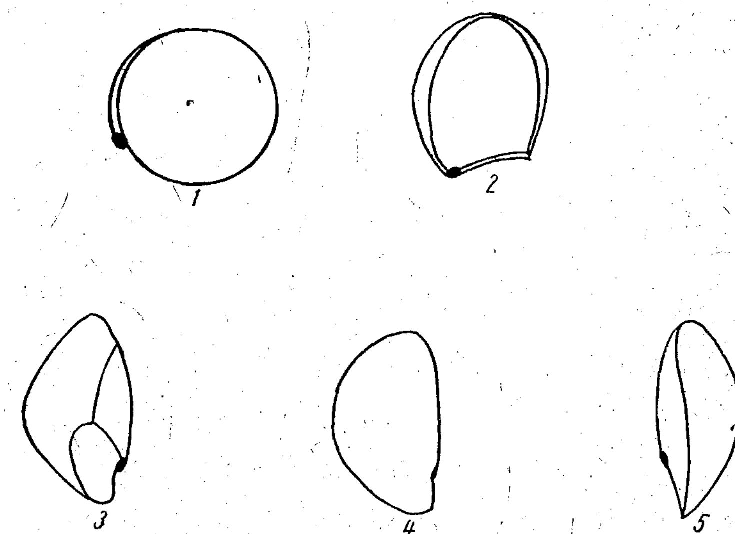


Fig. 2. — Morfologia seminţei. *1*, Secţ. *Ophioscorodon* şi *Anguinum*; *2*, secţ. *Rhizirideum*; *3*, secţ. *Phyllodolon*, *Cepa* şi *Melanocrommyum*; *4*, secţ. *Codonoprasum*; *5*, secţ. *Allium*.

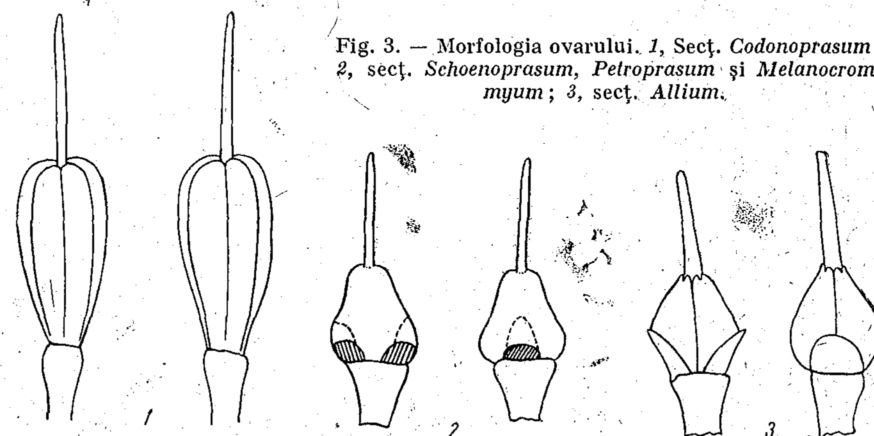


Fig. 3. — Morfologia ovarului. *1*, Secţ. *Codonoprasum*; *2*, secţ. *Schoenoprasum*, *Petroprasum* şi *Melanocrommyum*; *3*, secţ. *Allium*.

1.4. *Numărul şi aşezarea ovulelor*. Majoritatea secţiilor de *Allium* din ţara noastră prezintă în fiecare lojă două ovule colaterale. La o singură secţie — *Melanocrommyum* —, lojile au 4—8 ovule biseriale, tip rar întîlnit în general în limitele genului, avînd de aceea o mare pondere taxonomică.

1.5. *Morfologia și biologia organelor subterane.* Structura organelor subterane la plantele bulboase reprezintă un caracter taxonomic însemnat, care a permis fundamentarea împărțirii în secții propuse de G. D o n, dintre care unele sînt valabile și astăzi. Deoarece morfologia organelor subterane se modifică în cursul unui ciclu vegetativ, în cele ce urmează prezentăm date care se referă la perioada de la sfîrșitul înfloririi :

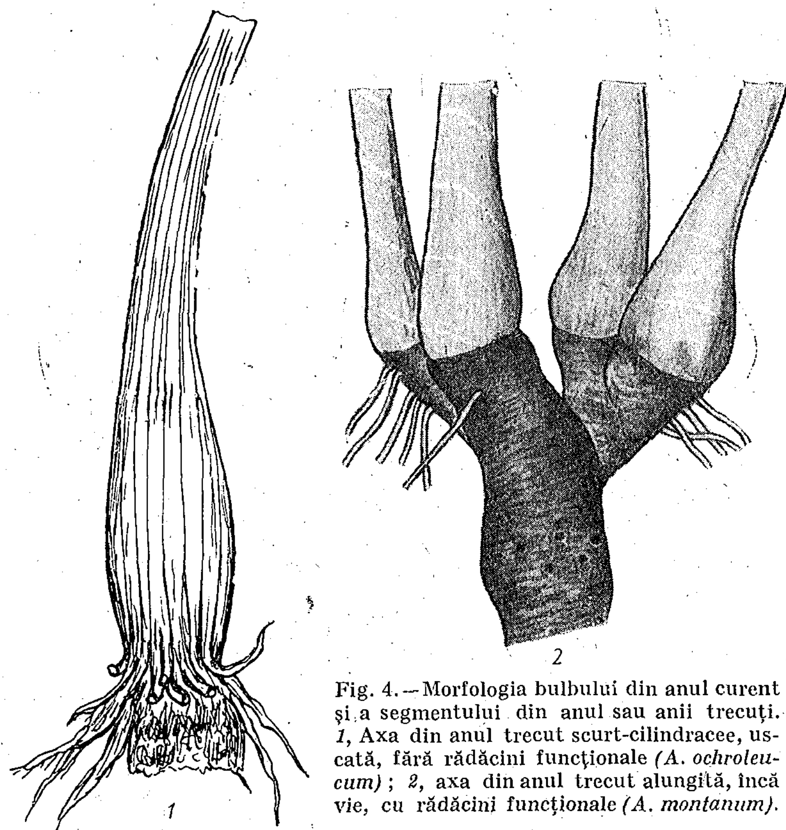


Fig. 4. — Morfologia bulbului din anul curent și a segmentului din anul sau anii trecuți. *1*, Axa din anul trecut scurt-cilindracee, uscată, fără rădăcini funcționale *(A. ochroleucum)*; *2*, axa din anul trecut alungită, încă vie, cu rădăcini funcționale *(A. montanum)*.

1.5.1. Axa subterană prezintă mai multe tipuri morfologice (fig. 4). La unele secții, aceasta are forma unui platou lat, ± sclerificat, care nu persistă pînă în al doilea an și se usucă ; rădăcinile sînt deci anuale (secț. *Codonoprasum*, *Melanocrommyum* și *Allium*). La alte secții (fig. 4, *1*), axa din anul trecut este scurtă, cilindrică, uscată, ± sclerificată, fără rădăcini funcționale către sfîrșitul ciclului vegetativ, deci tot cu rădăcini anuale (secț. *Ophioscorodon*, *Phyllodolon*, *Schoenoprasum*). La secția *Rhizirideum* (fig. 4,*2*), segmentul din anul trecut este persistent, sclerificat, alungit-cilindraceu, în formă de rizom simplu sau ramificat, cu rădăcinile vii situate numai în partea sa superioară. Un organ subteran de acest tip împreună cu solzii sînt considerați de E. L o e w (18), V. K. V a s i l e v s k a i a (27), Z. N. F i l i m o n o v a (9) și alții ca un rizom, și nu ca un bulb. Stabilirea vitalității axei din anul trecut se face printr-un examen microscopic al secțiunilor transversale, prin observații asupra emiterii și

duratei rădăcinilor și prin folosirea testelor biochimice cu tetrazol (14) și cu fluoresceină (12). Dificultatea de a preciza vîrsta segmentelor vii ale axei constituie una din cauzele divergențelor dintre autori în ceea ce privește delimitarea secției *Rhizirideum*. A. I. V v e d e n s k i (29) și, mai recent, T. I a . O m e l c z i u k (21), bazîndu-se numai pe aspectul exterior al organelor subterane, fără a preciza vitalitatea lor, au introdus în această secție specii sau chiar serii întregi îndepărtate, ca, de exemplu, secțiile *Globosa* și *Stricta*.

1.5.2. *Repausul estival.* Prezența sau absența repausului estival (cel puțin aparent) în ontogenia organelor subterane constituie un însemnat caracter biologic. La secțiile *Allium* și *Codonoprasum*, organul de reînnoire (bulbul de reînnoire) este format din solzii ciclului ontogenetic următor, după care vine o perioadă de repaus estival aparent[2]. La secțiile *Rhizirideum*, *Schoenoprasum* și *Phyllodolon*, lăstarul de reînnoire începe să crească imediat după terminarea înfloririi, fără întrerupere estivală.

1.5.3. *Originea și numărul solzilor de acumulare a bulbului de reînnoire.* Aceștia pot proveni din profile lipsite de lamina foliară (secț. *Allium* și *Codonoprasum*), alteori din baza îngroșată a tecii frunzelor (secț. *Ophioscorodon*, *Rhizirideum* și *Phyllodolon*). Uneori, originea solzilor este mixtă (secț. *Cepa*). Numărul acestor solzi este variabil : unul singur (secț. *Ophioscorodon* și *Allium*) (fig. 5, *1*), doi (secț. *Codonoprasum*) (fig. 5,*2*) sau mai mulți (fig. 5, *3*), ceea ce constituie un bun caracter pentru deosebirea secțiilor. De remarcat faptul că la acest gen forma solzilor nu

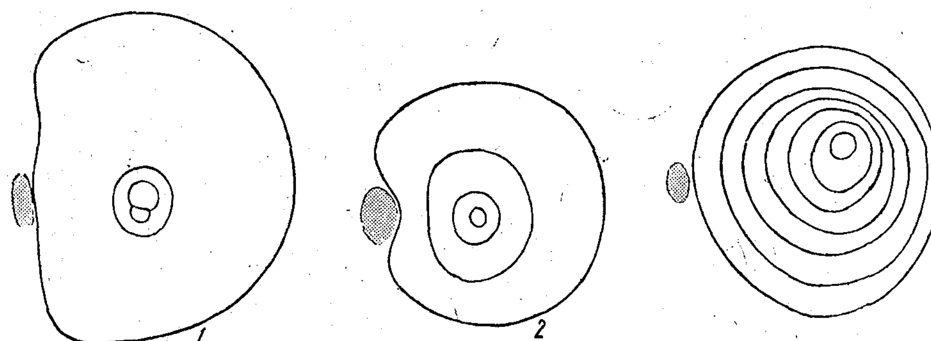


Fig. 5. — Secțiunile bulbului sau lăstarului de reînnoire la sfîrșitul înfloririi. Numărul solzilor de înmagazinare : *1*, un singur solz îngroșat ; *2*, doi solzi îngroșați ; *3*, mai mulți solzi subțiri.

constituie un caracter diferențial major, deoarece la toate speciile solzii sînt tubuloși, închiși pînă la vîrf („tunicați"), neconcrescuți între ei. Această uniformitate deosebește genul *Allium* de la unele genuri de *Liliaceae*, ca : *Muscari*, *Ornithogalum*, *Gagea*, *Hyacinthus*, care prezintă o mare variabilitate morfologică în această privință.

1.5.4. *Baza scapului.* Diversele tipuri de morfologie și structură ale bazei scapului din interiorul bulbului au o anumită importanță în delimitarea taxonilor supraspecifici, fapt semnalat pentru prima dată în această

[2] Repausul estival la plantele bulboase, așa cum a arătat M. N. P r o z i n a (22), nu este absolut, deoarece procesele de creștere și dezvoltare continuă în interiorul bulbului, deși nu sînt vizibile la exterior.

lucrare. În unele cazuri, baza scapului nu este sclerificată şi are forma unei foiţe subţiri (ca, de exemplu, la subsecţiile *Schoenoprasum* şi *Codonoprasum*) (fig. 6, *2*). Alteori, ea este puternic sclerificată pînă la punctul de inserţie pe axă (ca la secţiile *Melanocrommyum* şi *Rhizirideum*, precum şi la subsecţia *Scorodoprasum*) (fig. 6, *1*). Un al treilea tip morfostructural, cu totul deosebit, se constată la subsecţia *Oenoprason* din secţia *Allium*, la care baza scapului este dilatat-spongioasă şi constituie un organ suplimentar de înmagazinare (fig. 6, *3*). Acest organ ia naştere în cursul anului

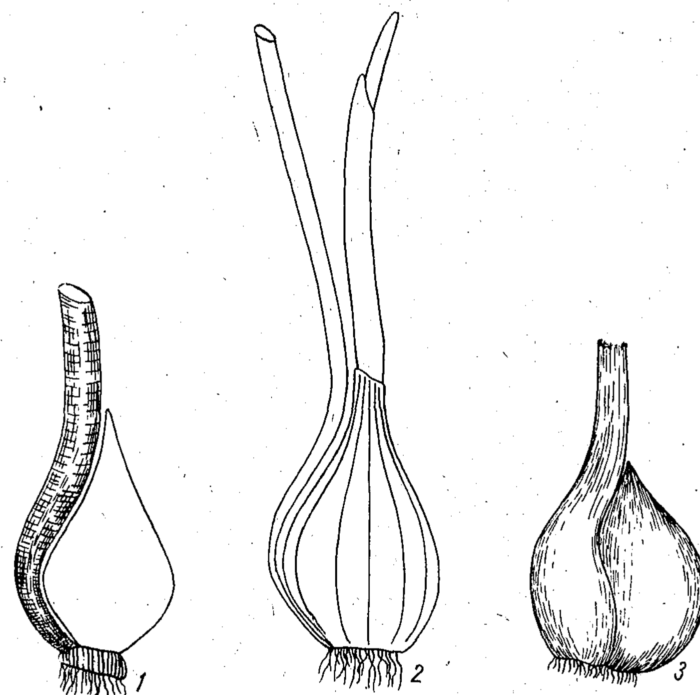


Fig. 6. — Baza scapului în interiorul bulbului: *1*, sclerificată; *2*, nesclerificată, comprimată în foiţă subţire; *3*, spongios-îngroşată.

de înflorire, şi nu în cursul anului trecut, cum este cazul solzilor de înmagazinare ai bulbului de reînnoire proveniţi din profile. Existenţa acestui organ suplimentar de rezervă la speciile xerofile *A. vineale* şi *A. guttatum* ar putea fi explicată admiţînd concepţiile de adaptare la condiţiile mediului (necesitatea de a compensa consumul exagerat în a doua jumătate a verii, în timpul înfloririi şi al fructificării). Concepţiile de adaptare, uneori cu o nuanţă de finalism, nu explică însă de ce la speciile xerofite apropiate taxonomic de primele, ca, de exemplu, la *A. scorodoprasum* şi *A. rotundum*, o astfel de adaptare nu există.

1.6. *Numărul de cromozomi*. După datele din literatură (19), (26), numărul de bază este de 7—8, excepţional 9 sau 10 la unele specii exotice (*A. karatavense*, *A. decipiens*). Această amplitudine redusă a variaţiei la un gen cu specii atît de numeroase (400—500) arată un anumit grad de omogenitate, dar nu poate demonstra adepţilor evoluţionismului originea mono- sau polifiletică a genului.

Referitor la secţiile din România, numărul de bază constituie un caracter de discriminare important, dar numai pentru secţia *Ophioscorodon*, singura la care x = 7. În general, importanţa discriminatorie a numărului de bază nu depăşeşte pe cea a altor caractere morfoanatomice folosite în mod curent în delimitarea taxonilor supraspecifici.

În ceea ce priveşte gradul de poliploidie, unele secţii, ca *Ophioscorodon*, *Anguinum*, *Phyllodolon*, sînt exclusiv diploide. Poliploidie cu variaţii de la 24 la 100 se constată la secţiile *Codonoprasum*, *Rhizirideum*, *Cepa* şi mai ales la *Allium*, dar niciodată la totalitatea speciilor unei secţii (tabelul nr. 1) cultivate sau spontane, reprezentînd serii de variaţii paralele sau serii omologe în sensul lui N. I. V a v i l o v (28).

În afară de caracterele şi tipurile descrise pînă aici, au fost luate în consideraţie, codificate şi în parte desenate numeroase altele, ca vernaţiunea, structura şi forma frunzelor, lungimea şi persistenţa spatului, prezenţa bracteolelor la baza pedicelilor, mişcările gamotropice şi carpotropice ale extremităţii scapului şi ale pedicelilor, forma perigonului, culoarea florilor, lungimea staminelor şi a stilului, blastogenia etc. Toate caracterele au servit la alcătuirea unei chei dihotomice sau a unor alte modalităţi de valorificare a informaţiei.

La genul *Allium* se cunosc şi alte numeroase caractere, ca, de exemplu, prezenţa bulbililor în inflorescenţă, bulbilii şi căţeii în jurul bulbului, forma şi structura tunicilor de protecţie etc., care s-au dovedit utile pentru determinarea speciilor, dar nu pentru delimitarea secţiilor [3].

2. RELAŢIILE DE ASEMĂNARE DINTRE SECŢII

Pentru a stabili aceste relaţii am recurs comparativ la următoarele trei metode: 1, metoda bazată pe aprecierea intuitivă; 2, metoda numerică bazată pe ipoteza egalităţii ponderii caracterelor; 3, metoda corelaţiilor indirecte.

2.1. *Metoda intuitivă*. În tabelul nr. 2, taxonii supraspecifici ai genului *Allium* sînt aşezaţi într-o anumită succesiune, după cercetări mai vechi sau recente. Din acest tabel sinoptic rezultă divergenţele dintre părerile autorilor în aprecierea aceluiaşi fenomen natural, divergenţe datorate lipsei de criterii obiective. Faţă de această situaţie am căutat să aplicăm metodele de taxonomie numerică menţionate. Trebuie subliniat faptul că aşezarea liniară a taxonilor ar putea să nu corespundă realităţii şi că este necesar a introduce reprezentaţii multidimensionale.

2.2. *Indici de asemănare pe baza ipotezei egalităţii ponderii caracterelor*. Acest principiu, atribuit lui M. A d a n s o n, dar datorat continuatorilor săi, a fost folosit de noi într-o lucrare anterioară (30). În lucrarea

[3] Subsectio *Chloroprasum* Zahariadi, subsectio nova (sectio *Schoenoprasum*). Foliis planis vel anguste-canaliculatis. Floribus ochroleucis, staminibus styloque perigonium cylindraceum longe superantibus. typus: *A. ochroleucum* W. K.

de față am calculat coeficienții de asemănare sau coeficienții de asociație pentru toate combinațiile-perechi de taxoni supraspecifici, după R. R. Sokal și P. H. A. Sneath (24), raportînd numărul de caractere comune unei perechi la numărul lor total; rezultatul, exprimat în procente, este arătat în matrice preliminară și în gruparea finală (fig. 7). Coeficienții de asemănare variază de la 25% (*Ophioscorodon — Allium*) și 28% (*Ophioscorodon — Codonoprasum*) pînă la 81% (*Cepa — Phyllodolon*). Media coeficienților de asemănare dintre fiecare secție și restul de nouă secții permite o clasare de orientare după asemănarea fenetică, mai ales după ce s-a aplicat analiza pe grupe (24). Această medie (fig. 7) variază de la

Tabelul nr. 2

Ordinea secțiilor genului *Allium*, după diferiți autori

Kunth (1843) Lebedour (1854)	Rouy (1911)	Hermann (1939) (inclusiv subsecț.) (1956)	Vvedenski (1936)	Omelcziuk (1962)	Warburg (1962)	*Flora R.S. România* (1966)	Taxonomia numerică neponderată analizată pe grupe
All. — 1	All. — 1	Mel. — 7	Ang. — 2	Ang. — 2	All. — 1	Oph. — 3	Oph. — 3
Sch. —15	Rhi. —13	Scord. —16	Oph. — 3	All. — 1	Co. — 2	Ang. — 2	Mel. — 7
Co. — 6	Sch. —15	Oe. — 9	Rhi. —13	Ce. — 5	Sch. —15	Ph. —12	All. — 1
Ehi. —13	Co. — 6	Pet. —11	Ph. —12	Ph. —12	Ce. — 5	Ce. — 5	Ang. — 2
Mo. — 8	Mo. — 8	Sch. —15	Ce. — 5	Sch. —15	Ph. —12	Co. — 6	Co. — 6
	(incl. 10)	Or. —10	Co. — 6	Rhi. —13	Mo. — 8	Rhi. —13	Ph. —12
	Mel. — 7	Rhi. —13	All. — 1	Co. — 6	Oph. — 3	Sch. —15	Ce. — 5
		Rhy. —14		Mel. — 7		All. — 1	Pet. —11
		Ch. — 4		Oph. — 3			Rhi. —13
		Ang. — 2					Sch. —15
		Oph. — 3					

Notă: *Allium* — All. 1; *Anguinum* — Ang. 2; *Arktroprason* = *Ophioscorodon* — Oph. 3; *Chionoprason* — Ch. 4; *Cepa* — Ce. 5; *Codonoprasum* — Co. 6; *Haplostemon* = *Codonoprasum* — Co. 6; *Macrospatha* = *Codonoprasum* — Co. 6; *Melamprason* = *Melanocrommyum* — Mel. 7; *Melanocrommyum* — Mel. 7; *Molium* — Mo. 8; *Nikeprason* = *Anguinum* — Ang. 2; *Oenoprason* — Oe. 9; *Ophioscorodon* — Oph. 3; *Oreiprason* — Or. 10; *Petroprason* = *Petroprasum* — Pet. 11; *Phyllodolon* — Ph. 12; *Porrum* = *Allium* — All. 1; *Rhizirideum* — Rhi. 13; *Rhynchoprasn* — Rhy. 14; *Schoenoprason* = *Schoenoprasum* — Sch. 15; *Scordoprason* — Scord. 16.

42% (secț. *Ophioscorodon*, cea mai „deosebită" de celelalte) la 60% (secț. *Schoenoprasum*, cea mai „asemănătoare" cu celelalte). Metoda neponderată dă adesea rezultate care nu corespund cu realitatea; astfel, coeficientul de asemănare dintre secțiile *Petroprasum* și *Phyllodolon* este destul de ridicat (61%), pe cînd în realitate prima se deosebește de cealaltă prin mai multe caractere importante (prezența foveolei nectarifere, prezența bracteolelor, forma frunzelor). În schimb, perechea *Phyllodolon — Cepa* (81%) este într-adevăr foarte apropiată atît intuitiv, cît și prin numeroase caractere comune.

Așa cum s-a arătat, clasificările intuitive propuse de diferiți autori (tabelul nr. 2) nu corespund între ele decît în linii generale; ele nu corespund nici cu cea bazată pe taxonomia numerică neponderată. Se impune perfecționarea metodelor numerice prin sporirea numărului de caractere și de tipuri (atribute), precum și prin introducerea și îmbunătățirea metodelor de ponderare.

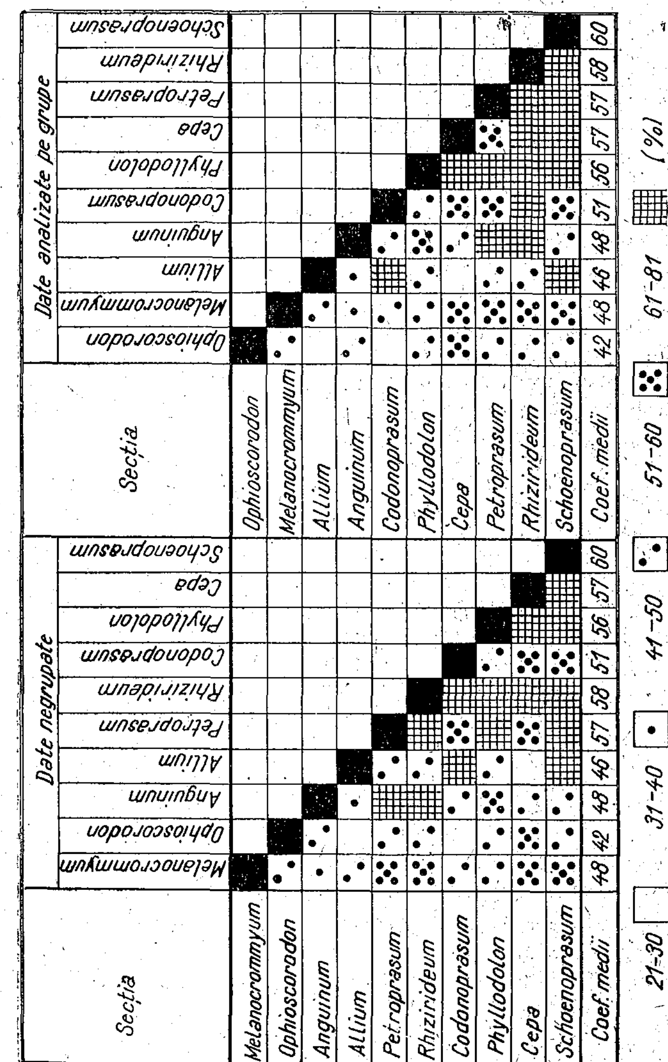


Fig. 7. — Coeficienții de asemănare dintre secțiile genului *Allium*.

3. CORELAŢIILE INDIRECTE DINTRE TIPURILE CARACTERELOR

Corelaţia indirectă în sensul lui F. Heincke - P. V. Terentiev, adoptată în această lucrare, constă în prezenţa în limitele unui taxon a mai multor tipuri aparţinînd diferitelor caractere fără legătură cauzală între ele. Pe măsură ce numărul tipurilor indirect corelate („pleiade") ale unui taxon creşte, gradul de deosebire al acestuia devine mai mare. Astfel, de exemplu, în limitele secţiei *Ophioscorodon* sînt indirect corelate următoarele tipuri: germinaţia hipogee, numărul haploid = 7 şi un singur solz de acumulare originar din teaca frunzei; mai sînt parţial corelate la aceeaşi secţie şi alte două tipuri: seminţe de formă globuloasă şi prezenţa peţiolului. Aceste multiple corelaţii indirecte confirmă poziţia secţiei *Ophioscorodon* la extremitatea scării valorilor taxonomice, poziţie stabilită de autori intuitiv şi confirmată de metoda numerică folosită.

La secţia *Allium* sînt corelate următoarele tipuri: filamentele staminale interne tricuspidate; ovarul cu o creastă transversală deasupra porului nectarifer; un singur solz de înmagazinare provenit din profila.

Corelaţiile sînt mai puţin evidente la secţia *Melanocrommyum*, a cărei poziţie este discutabilă. În rezumat, corelaţiile indirecte dintre tipurile caracterelor permit adesea o delimitare mai obiectivă a taxonilor şi o precizare a gradului de asemănare între ei.

DISCUŢII ŞI CONCLUZII

1. Pentru delimitarea taxonilor în cazul genurilor polimorfe sînt necesare caractere şi tipuri (sau atribute) numeroase; de aceea este esenţial ca, alături de cele cunoscute, să se găsească şi să se introducă tipuri noi, adîncindu-i cunoaşterea morfologică şi biologică. În lucrarea de faţă au fost introduse 21 de caractere cu 62 de tipuri.

Un studiu incomplet al unui caracter poate duce la intrepretări şi generalizări eronate. Astfel, caracterizarea secţiei *Rhizirideum* nu s-a schimbat de la G. Don (6) pînă la A. I. Vvedenski (29) şi la T. Ia. Omelcziuk (21), deşi între timp numărul speciilor s-a înzecit. Din această cauză, secţia *Rhizirideum*, de exemplu, a devenit un amalgam de elemente disparate, transformîndu-se într-o noţiune nereală.

2. Nu poate fi acceptată concepţia lui V. K. Vasilevskaia (27), după care segmentele subterane ale secţiei *Rhizirideum* sînt considerate drept rizom, bazîndu-se pe faptul că solzii sînt mai puţin îngroşaţi decît la un bulb obişnuit, noţiune pur cantitativă, care nu poate schimba definiţia unui organ.

3. Dintre caracterele noi sau mai puţin uzitate introduse în această lucrare se pot enumera: morfologia seminţelor, procesul de blastogenie, biologia organelor subterane, structura ovarului, morfoanatomia bazei scapului ş.a. Forma şi structura seminţei au o mare pondere şi la alte genuri de *Liliaceae*, ca, de exemplu, la genul *Ornithogalum*, confirmînd ideile generale ale lui Andrea Cesalpino, creatorul metodei morfologice în taxonomie.

4. Numărul de bază la speciile genului *Allium* are o amplitudine de variaţie limitată, de la 7 pînă la 8, şi numai excepţional la unele specii

exotice ajunge pînă la 9—10. Studiul citologic trebuie deci completat prin morfologia cromozomilor, iar într-un viitor apropiat prin citosistematica la nivelul molecular.

Poliploidia la genul *Allium* nu poate explica diferenţierea dintre secţii, deoarece se limitează la variaţii paralele în interiorul acestora, după legea şirurilor omologe a lui N. I. Vavilov (28), (1).

5. Informaţia obţinută prin examenul morfobiologic al taxonilor a permis stabilirea gradului lor de asemănare fenetică prin folosirea de trei metode:

a) intuitivă;

b) numerică, bazată pe principiul egalităţii caracterelor;

c) metoda corelaţiilor indirecte.

6. În ceea ce priveşte metoda intuitivă, trebuie ţinut seama de faptul că creierul este în realitate un ordinator care primeşte şi înregistrează informaţia, o selecţionează şi apoi formulează concluziile. Nu este deci just să desconsiderăm procesul intuitiv. Rezultate pozitive pot fi obţinute deocamdată numai prin îmbinarea metodei intuitive cu metodele numerice. "We are still feeling our way in numerical taxonomy" [4], a spus P.H.A. Sneath, unul dintre promotorii metodei numerice.

7. Calculul coeficienţilor de asemănare, bazat pe egalitatea ponderii, nu este satisfăcător, deoarece adesea rezultatele nu corespund realităţii; metoda trebuie modificată prin adoptarea ponderării caracterelor la care lucrăm în prezent.

8. Prezenţa mai multor tipuri aparţinînd unui singur caracter în aceeaşi secţie denotă o pondere nesatisfăcătoare a tipului respectiv sau o lipsă de omogenitate a secţiei; aceasta implică necesitatea unei regrupări sau a eliminării acelor caractere care au tendinţa spre transgresiune.

9. În interiorul genului *Allium* se constată cazuri de convergenţă şi de variaţii paralele (sau de serii omologe) în sensul lui C. Naudin (20) şi J. Duval-Jouve (7), noţiune aprofundată şi generalizată de N. I. Vavilov (28), apoi adoptată de Agnes Arber (1) şi de toţi autorii contemporani. Printre astfel de serii, la genul *Allium* se pot cita poliploidia, prezenţa nişelor nectarifere, structura organelor subterane şi foliare etc.

10. În cercetările viitoare este necesar să se adopte şi alte criterii, în afara celor morfoanatomic şi citologic simplificat (limitat la numărătoarea cromozomilor), de exemplu criteriile fizico- şi chemotaxonomice; studiul pigmenţilor florali, analiza chimică şi determinarea obiectivă a mirosului uleiurilor eterice cu sulf, care permite atît de clar delimitarea cunoscută de milenii între ceapă, usturoi şi praz, precum şi morfologia adîncită a cromozomilor la nivel molecular.

BIBLIOGRAFIE

1. Arber A., *Monocotyledons*, Cambridge, 1925.
2. Astheimer H., *Allium*, in P. Graebner u. O. Kirchner, *Lebensgeschichte der Blütenpflanzen*, Stuttgart, 1913, **1**, *3*.
3. Балковский Б. Е., *Цифровой политомический ключ для определения растений*, Киев, 1964.

[4] „ Noi încă dibuim drumul în taxonomia numerică".

4. BOISSIER E., *Flora orientalis*, Geneva, 1885, **V**.
5. BRUCK M. TH., Progr. d. Oberrealschule, Czernovitz, 1882.
6. DON G., *A Monograph of the Genus Allium*, Londra, 1832, **6**, 1–102.
7. DUVAL-JOUVE J., Bull. Soc. Bot. de France, 1865, **12**, 196–211.
8. FEINBRUN NAOMI, Palestine J. Bot., 1938–1940.
9. ФИЛИМОНОВА З. Н., *К онтогенезу и морфологии некоторых видов рода Allium*, Автореферат дисс., Ташкент, 1959.
10. HEINCKE F., Abhandl. dtsch. Seefischerei Vereins, 1898, *136*, 1–128.
11. HERMANN F., Fedde's Repert. spec. nov. regni veget., 1939, **46**.
12. HUTCHINSON J., *The families of flowering plants, Monocotyledons*, Londra, 1959, **II**, ed. a 2-a.
13. IRMISCH TH., *Zur Morphologie der monokotylischen Knollen und Zwiebelgewächse*, Berlin, 1850.
14. KENDRICK W. B., Taxon, 1965, **14**, *5*.
15. КОВАЛЕВА Т. А., Бот. журн., 1967, **52**, 670.
16. KRAUSE K., *Liliaceae*, in A. ENGLER, *Die natürl. Pflanzenf.*, Berlin, 1930, **15 a**, ed. a 2-a, 319–322.
17. KUNTH C. S., *Enumeratio plantarum*, Stuttgart, 1843, **4**, 379.
18. LOEW E., in P. GRAEBNER u. O. KIRCHNER, *Allium – Lebensgesch. d. Blütenpfl. Mitteleuropas*, Stuttgart, 1913, **1**, secţia a 3-a, *16*.
19. LÖVE A. S. a. LÖVE DORIS, Opera botanica, 1962, **5**.
20. NAUDIN C., Ann. Sci. Nat., 1856, seria a IV-a, **6**, 5–73.
21. ОМЕЛЬЧУК Т. Я., Укр. Бот. Журн., 1962, **19**, *3*.
22. ПРОЗИНА М. Н., ДАН СССР, 1944, **44**, *6*.
23. САЛЯЕВ Р. К., Бот. Журн., 1967, **52**, *9*, 1321.
24. SOKAL R. R. a. SNEATH P. H. A., *Principles of Numerical Taxonomy*, Freeman, S. Francisco – Londra, 1963.
25. ТЕРЕНТЬЕВ П. В., Вестник Ленингр. Унив., 1959, **9**, 127–141.
26. ВАХТИНА Л. И., Бот. Журн., 1964, **49**, 870.
27. ВАСИЛЕВСКАЯ В. К., *Систематические признаки в строении луковицы у видов лука (Allium)*, Сб. АН СССР, Москва-Ленинград, 1939.
28. VAVILOV N. I., J. Genet., 1922, **12**, 47–89.
29. ВВЕДЕНСКИЙ А. И., *Allium*, в *Флора СССР*, Ленинград, 1935, **4**, 112–280.
30. ZAHARIADI C., Rev. roum. Biol., Série de Botanique, 1964, **9**, *3*, 191–207.

Institutul de biologie „Traian Săvulescu",
Secţia de sistematică, morfologie şi geobotanică.

Primit în redacţie la 6 iunie 1968.

CONTRIBUŢII LA CUNOAŞTEREA NEVOII DE ELEMENTE MINERALE A PLANTELOR

DE

ACADEMICIAN N. SĂLĂGEANU şi V. OLIMID

581.13

Dans ce travail ou présente les résultats des expériences effectuées en 1967 concernant le besoin en sels minéraux de l'avoine „Cenad 309" cultivée dans des vases de végétation avec du sol brun-roux de forêt.
Dans les variantes NPK et NP les plantes ont présenté une meilleure croissance et une surface plus grande des feuilles, produisant une récolte supérieure.
Dans les vases de végétation avec un seul macroélément, les plantes ont réagi d'une manière plus active à l'azote et moins au phosphore et au potassium.
Dans les variantes à deux macroéléments les plantes ont réagi vis-à-vis de l'azote et du phosphore administrés ensemble.
La dynamique de l'intensité de la photosynthèse a été semblable à celle de l'augmentation de la substance sèche des plantes; la valeur maximale a été enregistrée chez la variante $N_2 P_2 K_1$.

Nevoia de elemente minerale a plantelor variază în raport cu planta, faza de vegetaţie, condiţiile de sol şi climă în care cresc şi se dezvoltă. Cunoaşterea acestor nevoi în diferite condiţii şi a raporturilor optime dintre elementele necesare permite dirijarea nutriţiei plantelor cu ajutorul îngrăşămintelor şi modificarea metabolismului în scopul obţinerii unor producţii mărite.

În lucrarea de faţă prezentăm rezultatele experienţelor efectuate de noi în anul 1967 privind nevoia de elemente minerale a ovăzului cultivat în vase de vegetaţie pe sol brun-roşcat de pădure. La plantele de experienţă s-au urmărit creşterea în înălţime, suprafaţa foliară, recolta agricolă şi biologică, coeficientul economic al transpiraţiei, intensitatea fotosintezei şi a respiraţiei, cantitatea de proteine din seminţe.

MATERIAL ŞI METODE

Ca plantă de experienţă am folosit ovăz, soiul Cenad 309, cultivat în vase de vegetaţie Mitscherlich, pe sol brun-roşcat de pădure adus de la Staţiunea „Pantelimon" a Facultăţii de biologie din Bucureşti. În fiecare vas s-au pus cîte 9,5 kg amestec de sol cu nisip de rîu în proporţie de 2 : 1.

Sărurile minerale au fost date la semănat, sub formă de soluţii, folosindu-se următoarele doze: pentru azot, o doză egală cu 0,1035 g N; pentru fosfor, 0,0812 g P_2O_5; pentru potasiu 0,0720 g K_2O la 1 kg amestec de sol cu nisip.

S-au alcătuit un număr de 14 variante, fiecare cu trei repetiţii după schema prezentată în tabelul nr. 1.

Tabelul nr. 1

Variantele experienţei şi cantitatea de săruri minerale adăugate

Nr. crt.	Varianta	Săruri minerale administrate	Cantitatea la vas g
1	martor	—	—
2	N_1	NH_4NO_3	2,809
3	N_2	NH_4NO_3	5,618
4	P_1	$Ca(H_2PO_4)_2$	1,273
5	P_2	$Ca(H_2PO_4)_2$	2,546
6	K_1	K_2SO_4	1,263
7	K_2	K_2SO_4	2,526
8	N_1P_1	NH_4NO_3 $(NH_4)_2HPO_4$	1,938 1,434
9	N_1K_1	NH_4NO_3 KNO_3	2,232 1,463
10	P_1K_1	KH_2PO_4 K_2HPO_4	0,988 0,632
11	N_2P_1	NH_4NO_3 $(NH_4)_2HPO_4$	4,747 1,434
12	$N_1P_1K_1$	NH_4NO_3 KH_2PO_4 K_2HPO_4	2,809 0,988 0,632
13	$N_2P_1K_1$	NH_4NO_3 KH_2PO_4 K_2HPO_4	5,618 0,988 0,632
14	$N_2P_2K_1$	NH_4NO_3 $(NH_4)_2HPO_4$ KH_2PO_4 K_2HPO_4	4,747 1,434 0,988 0,632

În fiecare vas de vegetaţie, după ce plantele au răsărit şi s-au întărit, s-au lăsat cîte 25 de plante. În toată perioada de vegetaţie, vasele au fost cîntărite şi apa pierdută prin transpiraţie şi evaporaţie s-a completat cu apă de robinet pînă la 70% din capacitatea pentru apă a solului, care a fost de 27,7%.

Prin metode chimice s-a determinat cantitatea de elemente minerale asimilabile: N prin metoda Tiurin, P prin metoda Arrhenius, iar K prin metoda Kirsanov.

În tot cursul perioadei de vegetaţie s-au măsurat la plantele de experienţă înălţimea tulpinii, suprafaţa frunzelor prin metoda parametrilor, fotosinteza şi respiraţia prin metoda manometrică adaptată la plantele aeriene.

La sfîrşitul perioadei de vegetaţie s-au recoltat plantele, s-au cîntărit recolta agricolă şi biologică, substanţa uscată acumulată pe organe, transpiraţia şi coeficientul economic al transpiraţiei.

Cantitatea de proteine din seminţe s-a determinat prin metoda Kjeldahl.

REZULTATE OBŢINUTE

Determinarea elementelor nutritive mobilizabile prin extracţie simplă

Pentru caracterizarea însuşirii solului de a aproviziona plantele cu elemente minerale, s-au dozat cantităţile de elemente nutritive extrase cu ajutorul unor soluţii cu o putere dizolvantă mare. Pentru caracterizarea condiţiilor de aprovizionare a plantei cu azot, s-a folosit metoda Tiurin (19), bazată pe determinarea cantităţilor de azot ce trec în extract la tratarea solului cu o soluţie de acid sulfuric 0,5 n la rece, în care se determină prin distilare amoniacul rezultat.

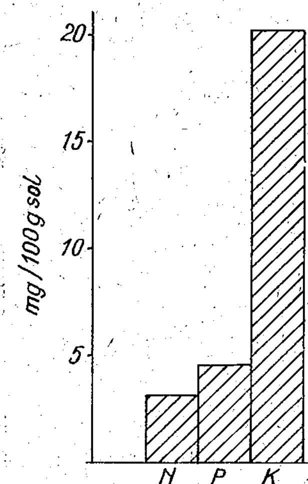


Fig. 1. — Cantitatea de azot, fosfor şi potasiu asimilabil din solul brun-roşcat de pădure, determinată prin metode chimice.

Determinarea fosforului considerat asimilabil s-a făcut prin metoda Arrhenius (1), bazată pe principiul extragerii fosfaţilor mobili din sol cu ajutorul unei soluţii de acid citric 1% şi pe dozarea colorimetrică a fosforului din extract.

Determinarea potasiului considerat asimilabil s-a făcut după metoda Kirsanov (13), bazată pe dozarea potasiului extras din sol cu o soluţie de acid clorhidric 0,2 n.

Rezultatele obţinute sînt exprimate în mg N, P_2O_5 şi K_2O la 100 g sol uscat.

Rezultatele determinărilor (fig. 1) arată o slabă aprovizionare cu azot şi fosfor şi o bună aprovizionare cu potasiu. Aceste rezultate nu pot

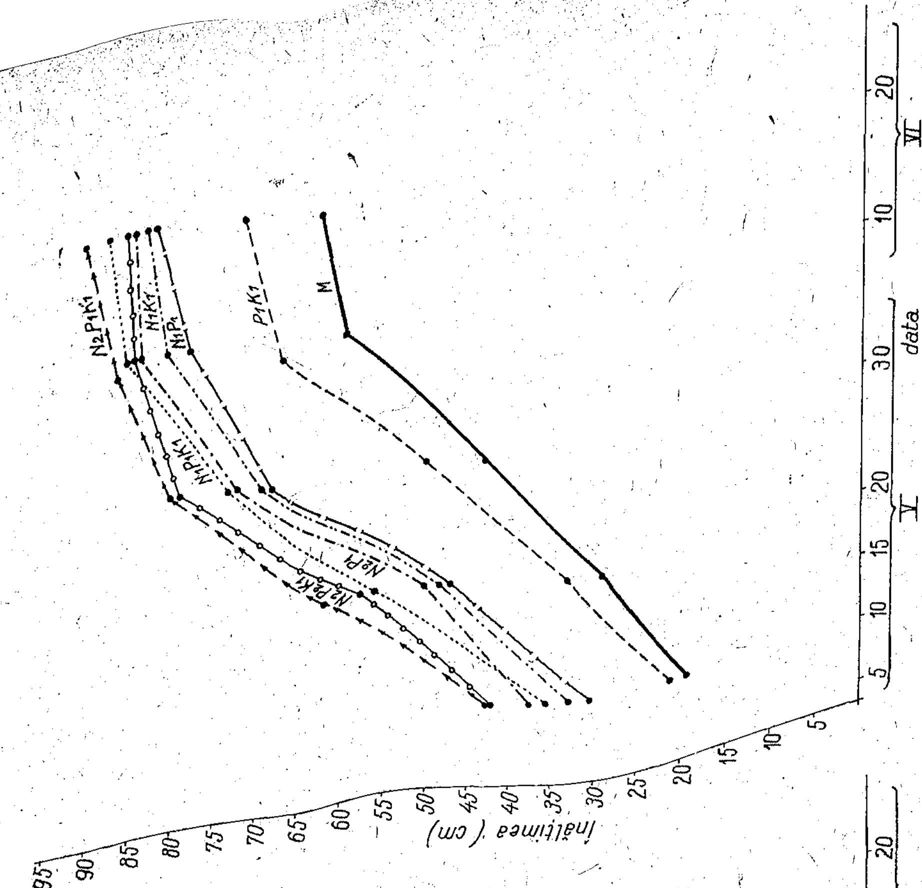


Fig. 3. – Influența îngrășămintelor de N, P și K administrate în amestec asupra creșterii în înălțime a plantelor de ovăz Cenad 309.

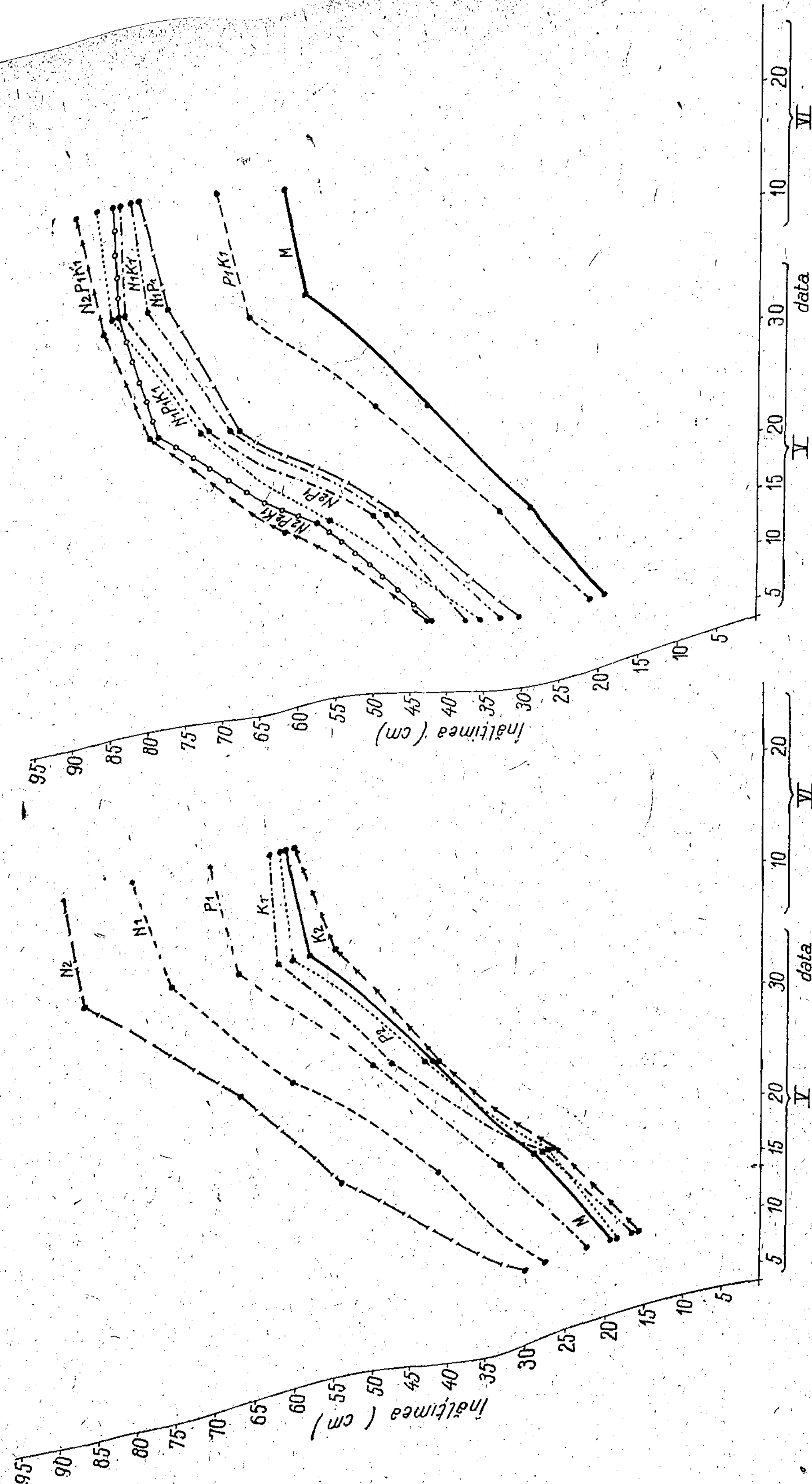


Fig. 2. – Influența îngrășămintelor de N, P și K administrate separat asupra creșterii în înălțime a plantelor de ovăz Cenad 309.

da indicații sigure asupra capacității solului de a aproviziona planta cu elemente minerale, deoarece mecanismul absorbției elementelor nutritive de către plante nu poate fi redus la simplul proces de dizolvare.

Creșterea în înălțime a plantelor

Înălțimea plantelor s-a măsurat de la suprafața solului pînă la ultima frunză și vîrful paniculului cu ajutorul unei rigle.

Sub influența îngrășămintelor de N, P și K administrate separat (fig. 2), se constată o creștere mai mare a înălțimii plantelor din variantele care au primit o doză și două doze de azot. În cazul plantelor care au primit o doză de fosfor, înălțimea a fost mai mare decît la plantele de control, dar mai mică decît la cele la care s-a administrat azot. În variantele P_2K_1 și K_2, înălțimea plantelor a fost apropiată de aceea a plantelor de control.

La administrarea în amestec a sărurilor minerale cu azot, fosfor și potasiu (fig. 3), se constată cea mai intensă creștere la plantele care au primit toate cele trei elemente (variantele $N_2P_1K_1$, $N_1P_1K_1$, $N_2P_2K_1$) și la cele care au primit două elemente (variantele N_1P_1, N_1K_1). La plantele din varianta PK, înălțimea tulpinii a fost apropiată de a martorului. Intensitatea creșterii în înălțime a plantelor depinde de prezența sau absența în sol mai ales a îngrășămintelor cu azot.

Suprafața foliară. Pentru aflarea suprafeței foliare s-a folosit metoda parametrilor (15), care constă în compararea suprafeței frunzei cu a unui dreptunghi cu aceeași lungime și aceeași lățime. S-au măsurat lungimea și lățimea frunzei, iar rezultatul obținut prin înmulțirea lor a fost înmulțit cu factorul de corecție 0,754, stabilit experimental.

După cum rezultă din analiza datelor reprezentate grafic în figura 4, suprafața foliară a crescut mult la plantele care au primit îngrășămînt complet de azot, fosfor și potasiu (variantele $N_2P_2K_1$, $N_2P_1K_1$, $N_1P_1K_1$) și la cele care au primit îngrășămînt combinat de azot cu fosfor (variantele N_2P_1 și N_1P_1). La variantele care au primit numai îngrășăminte cu azot, suprafața foliară a crescut față de cea a plantelor din varianta de control, dar s-au înregistrat valori inferioare față de ale plantelor care au primit și fosfor. La varianta N_1K_1, suprafața foliară are valori mai mici decît în cazul variantei N_1P_1. La plantele din variantele cu îngrășăminte de fosfor și potasiu date separat, suprafața foliară este foarte apropiată de a plantelor de control. La varianta P_1K_1 este puțin mai mare decît a plantelor de control.

Formarea unei suprafețe foliare mari este favorizată de îngrășămintele cu azot, fosfor și potasiu administrate împreună.

Recolta biologică și agricolă. Pentru determinarea recoltei biologice și agricole (greutatea boabelor după coacerea deplină s-au scos plantele întregi din sol, cu ajutorul unui curent de apă. Plantele au fost uscate

iniţial la aer, după aceea în termostat la temperatura de 60°C. Recolta biologică s-a aflat prin cîntărirea plantelor întregi, iar recolta agricolă prin cîntărirea boabelor de la plantele dintr-un vas, rapoertîndu-se rezultatul la o singură plantă. Greutatea substanţei uscate acumulate pe organe s-a obţinut prin detaşarea lor şi prin cîntărire.

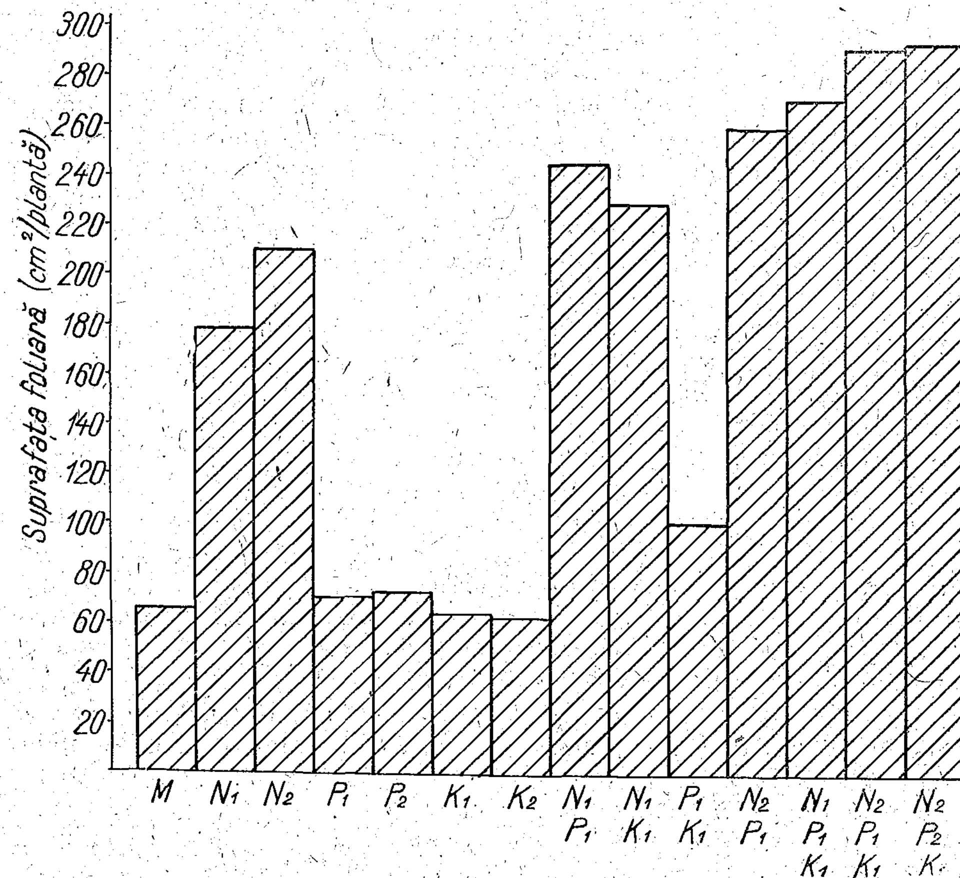


Fig. 4. — Suprafaţa foliară în timpul înfloririi la ovăz Cenad 309 sub influenţa îngrăşămintelor de N, P şi K administrate separat şi în amestec.

Recolta biologică (fig. 5) a crescut faţă de varianta de control la variantele: $N_2P_2K_1$, $N_2P_1K_1$, $N_1P_1K_1$, N_2P_1, N_1P_1, N_1K_1, N_1 şi N_2. La variantele la care nu s-au administrat îngrăşăminte cu azot, ci numai cu fosfor şi potasiu (K_1, K_2, P_1, P_2, P_1K_1), recolta a fost apropiată de a variantei de control.

Valorile recoltei agricole (fig. 6) prezintă în general acelaşi mers, arătînd o ineficienţă a îngrăşămintelor de fosfor şi mai ales a celor de potasiu date separat sau împreună. Recolta agricolă şi cea biologică depind de buna aprovizionare cu azot şi fosfor.

Substanţa uscată acumulată pe organe (fig. 7) variază în mod asemănător. La rădăcină, diferenţele sînt în general mici. Cea mai mare cantitate de substanţă uscată s-a acumulat în panicule şi frunze la plantele care au primit azot singur sau împreună cu fosfor şi potasiu.

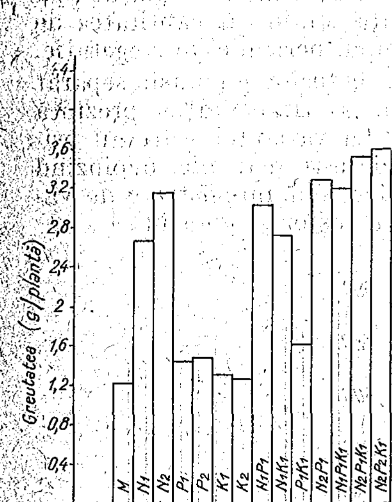


Fig. 5. — Recolta biologică a plantelor de ovăz Cenad 309 la care s-au administrat îngrăşăminte de azot, fosfor şi potasiu.

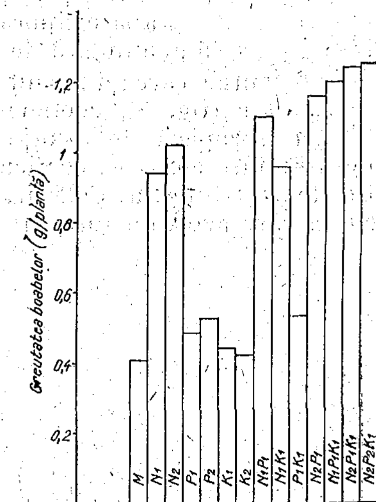


Fig. 6. — Recolta agricolă (greutatea boabelor) la plantele de ovăz Cenad 309 la care s-au administrat îngrăşăminte de N, P şi K.

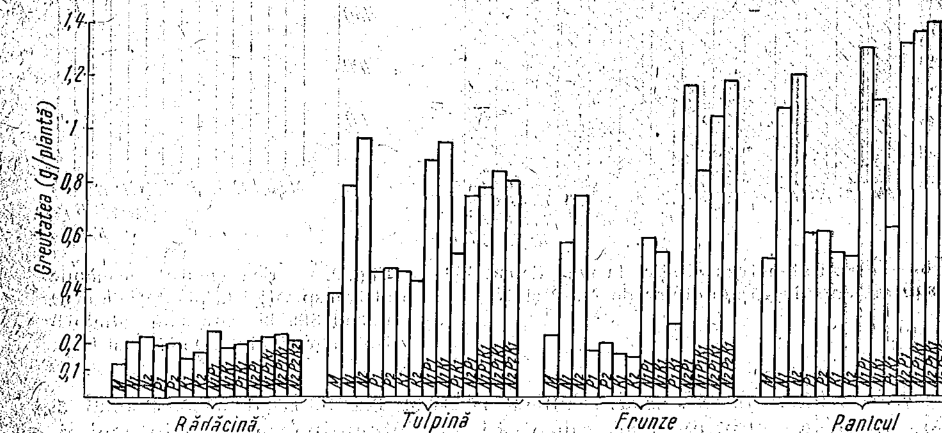


Fig. 7. — Substanţa uscată acumulată pe organe la plantele de ovăz Cenad 309, sub influenţa îngrăşămintelor de N, P şi K.

Transpiraţia plantelor. A fost determinată prin metoda cîntăririi la începutul fazei în burduf a plantelor şi este exprimată în g apă transpirată de 1 dm² frunză în 24 de ore. Transpiraţia (fig. 8) este mai intensă la variantele care au primit azot singur sau în amestec cu fosfor şi potasiu. Îngră-

șămintele cu fosfor și potasiu, singure sau în amestec, au determinat o scădere a intensității transpirației.

Coeficientul economic al transpirației. Calcularea coeficientului economic al transpirației s-a făcut prin raportarea cantităților totale de apă transpirată de plante (aflat prin diferența dintre cantitatea totală de apă pierdută de plante și apa evaporată la suprafața solului) la cantitatea de substanță organică acumulată de ele în tot timpul perioadei de vegetație.

La variantele care au primit îngrășăminte de fosfor și potasiu separat sau în amestec (fig. 9), coeficientul economic al transpirației prezintă valori mari, apropiate de valorile martorului. La variantele care au primit îngrășăminte cu azot, coeficientul economic este mai mic, depinzînd de doza de azot folosită. Cele mai coborîte valori sînt înregistrate de variantele la care azotul a fost dat în amestec cu fosfor și potasiu.

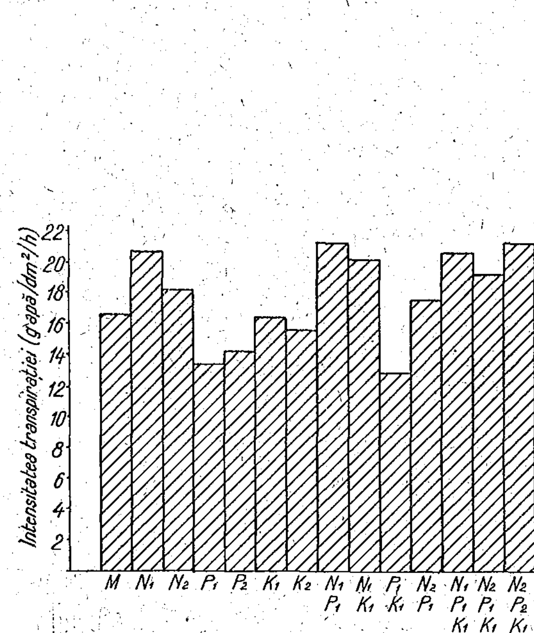


Fig. 8. — Intensitatea transpirației la ovăz Cenad 309 sub influența îngrășămintelor de N, P și K.

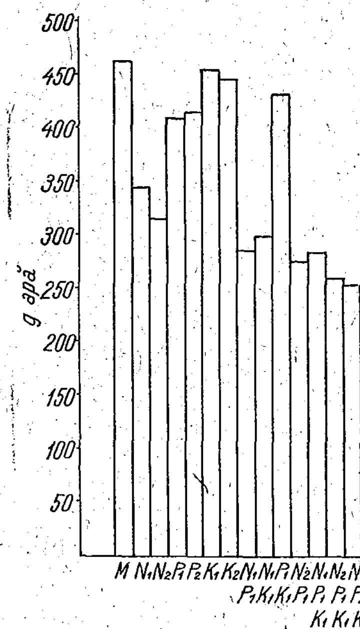


Fig. 9. — Coeficientul economic al transpirației la plantele de ovăz Cenad 309 la care s-au administrat îngrășăminte de N, P și K.

Intensitatea fotosintezei. Pentru aflarea intensității fotosintezei s-a folosit metoda manometrică adaptată la determinarea fotosintezei și a respirației frunzelor plantelor aeriene (17), la care soluția-tampon mai concentrată este îmbibată în vată și nu vine în atingere cu plantele. Soluția-tampon constă dintr-un amestec de Na_2CO_3—286 g/l— și $NaHCO_3$—84 g/l— în echilibru, la 25°C, cu concentrația de CO_2 din aer egală cu 3%. Acest procedeu asigură o bună aprovizionare a frunzelor cu CO_2. S-au folosit porțiuni de frunze, cu suprafața de 4,5 cm², tăiate după un șablon. Fragmentele au fost introduse în niște rezervoare de apă confecționate din

tub de cauciuc (fig. 10) pentru a asigura frunzelor o bună aprovizionare cu apă. Determinările au fost făcute la intensitatea luminii de 18 000 de lucși.

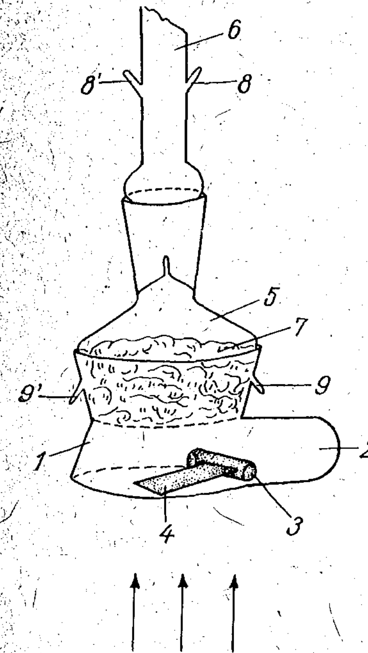


Fig. 10. — Determinarea fotosintezei prin metoda manometrică. *1*, Camera de asimilație; *2*, prelungire; *3*, rezervor cu apă; *4*, suprafața foliară introdusă cu un capăt în rezervorul cu apă; *5*, capacul camerei de asimilație; *6*, manometru; *7*, vată îmbibată cu o soluție de $NaHCO_3$ și Na_2CO_3; *8,8'* și *9,9'*, cîrlige pentru fixarea camerei de asimilație la manometru.

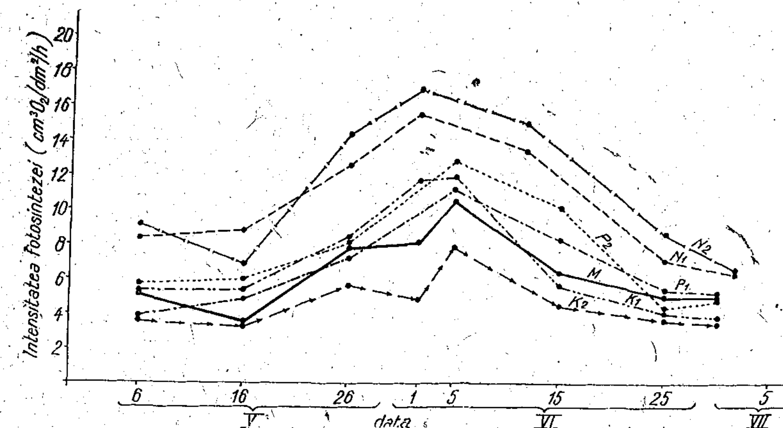


Fig. 11. — Intensitatea fotosintezei la ovăz Cenad 309 sub influența îngrășămintelor de N, P și K administrate separat.

În figura 11 sînt trecute valorile intensității fotosintezei în $cm^3O_2/dm^2/h$ la plantele la care îngrășămintele de azot, fosfor și potasiu au fost administrate separat. Se constată valori mari la variantele cu o doză și două doze de azot. La variantele P_2, P_1, K_1, intensitatea fotosintezei

este apropiată faţă de cea a plantelor de control, în timp ce la varianta K_2 este mai scăzută.

Fotosinteza la plantele care au primit un amestec de săruri minerale (fig. 12) cu azot, fosfor şi potasiu este cea mai intensă în comparaţie cu plantele de control (variantele $N_2P_1K_1$, $N_2P_2K_1$, $N_1P_1K_1$). La varianta N_2P_1 intensitatea fotosintezei este apropiată de a plantelor din variantele

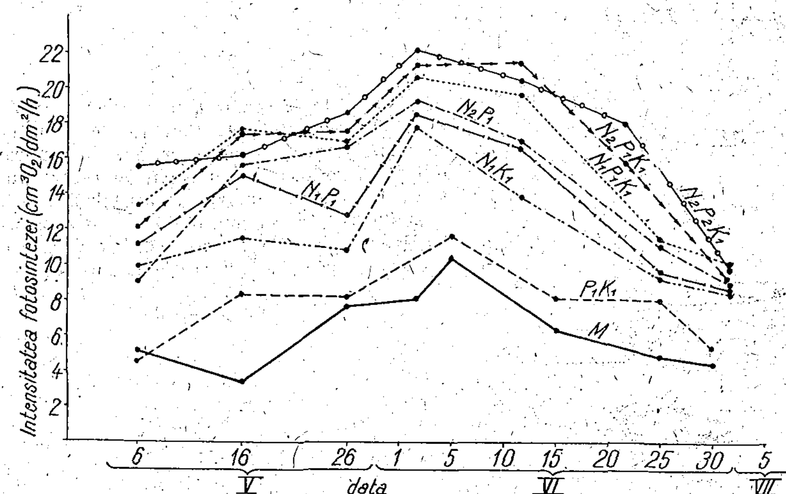


Fig. 12. — Intensitatea fotosintezei la ovăz Cenad 309 sub influenţa îngrăşămintelor de N, P şi K administrate în amestec.

cu îngrăşămînt complet. La varianta N_1P_1, valorile intensităţii fotosintezei sînt mai ridicate decît la varianta N_1K_1. La plantele îngrăşate cu amestec de săruri de fosfor şi potasiu, fotosinteza are intensităţi apropiate de ale plantelor de control.

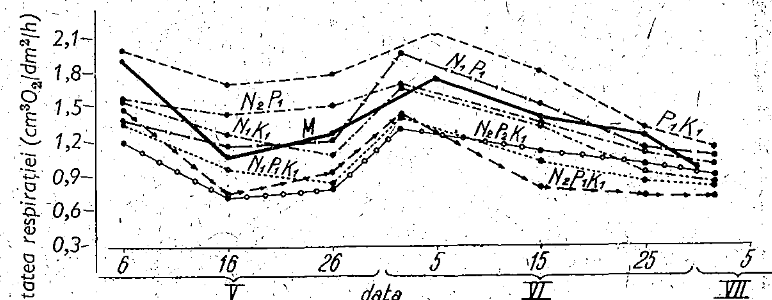


Fig. 13. — Intensitatea respiraţiei la ovăz Cenad 309 sub influenţa îngrăşămintelor de N, P şi K administrate separat.

Intensitatea fotosintezei creşte în cazul unei nutriţii bune cu azot şi fosfor. Potasiul nu modifică simţitor fotosinteza, plantele fiind bine aprovizionate cu acest element.

Respiraţia plantelor. Intensitatea respiraţiei s-a determinat tot prin metoda manometrică, folosindu-se aceeaşi soluţie-tampon îmbibată în vată. Intensitatea respiraţiei sub influenţa îngrăşămintelor de azot, fosfor şi potasiu, administrate separat (fig. 13) şi în amestec (fig. 14), este

în general mai apropiată de a plantelor de control în comparaţie cu fotosinteza. Valori mai ridicate decît la varianta de control se observă la variantele P_2, K_2, P_1K_1. Valori mai coborîte decît la martor găsim la variantele $N_2P_2K_1$, $N_2P_1K_1$, $N_1P_1K_1$.

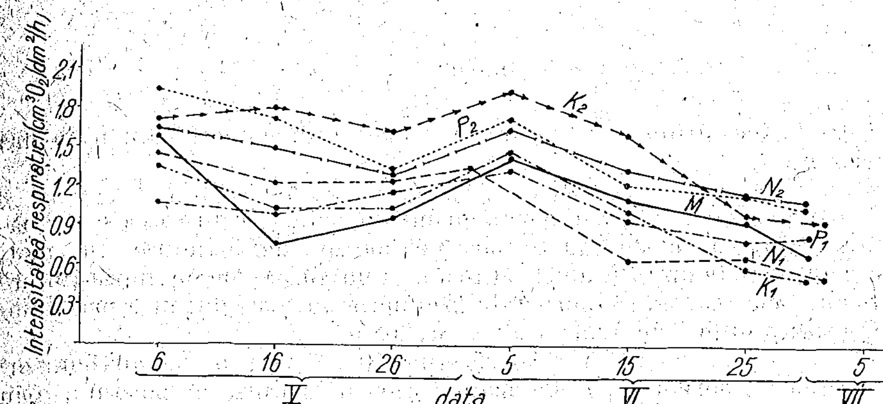


Fig. 14. — Intensitatea respiraţiei la ovăz Cenad 309 sub influenţa îngrăşămintelor de N, P şi K administrate în amestec.

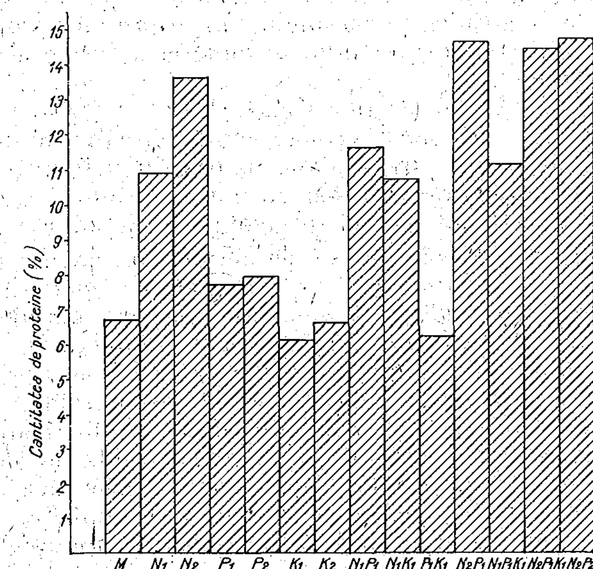


Fig. 15. — Influenţa îngrăşămintelor de N, P şi K asupra cantităţii de proteine din seminţele de ovăz Cenad 309.

Plantele la care fotosinteza este mai ridicată au respiraţia mai scăzută, iar cele care au primit fosfor şi potasiu şi au fotosinteza scăzută au respiraţia ridicată.

Conţinutul în proteine al seminţelor. În privinţa cantităţii de proteine din seminţe (fig. 15), se constată o creştere la variantele la care s-a administrat azot singur sau în amestec cu fosfor şi potasiu. Creşterea conţinu-

tului în proteine este în funcţie de doza de azot, atingînd valorile cele mai ridicate la variantele N_2, N_2P_1, $N_2P_1K_1$ şi $N_2P_2K_1$.

Valorile sînt apropiate de ale martorului la variantele K_1, K_2 şi P_1K_1 şi uşor crescute la variantele P_1 şi P_2.

DISCUŢII

Rezultatele obţinute de noi sînt în concordanţă cu datele din literatura de specialitate.

G. Ionescu-Şişeşti (11) şi G. Ionescu-Şişeşti şi Gr. Coculescu (12), experimentînd cu soluri brun-roşcate de pădure, au arătat că acestea au o mare nevoie de îngrăşăminte cu azot, nevoie mai mică de îngrăşăminte cu fosfor şi nu au nevoie de îngrăşăminte cu potasiu. Cele mai mari sporuri de producţie au fost obţinute prin folosirea îngrăşămintelor de azot şi azot cu fosfor.

D. Davidescu, N. Bîrsan, P. Avram şi colaboratori (5), efectuînd experienţe pe sol brun-roşcat de pădure cu porumb, grîu de primăvară şi de toamnă la Baza experimentală agricolă Moara Domnească, arată că există diferenţe de creştere şi de dezvoltare între variantele îngrăşate şi varianta-martor. Cele mai mari sporuri de recoltă s-au obţinut la variantele la care s-a aplicat azot singur sau în prezenţa fosforului şi a potasiului. La administrarea potasiului, producţia a fost apropiată de a variantei fără potasiu.

D. Davidescu, M. Dalas şi I. Vineş (6) şi M. Dalas, D. Davidescu şi I. Vineş (4,) în experienţe executate la Moara Domnească cu orz de toamnă, ovăz şi alte păioase de primăvară, au constatat că cele mai bune rezultate au fost obţinute la aplicarea îngrăşămintelor cu azot singur, dat sub formă de azotat de amoniu.

În alte experienţe, executate tot pe acelaşi sol cu orz de toamnă, D. Davidescu şi I. Vineş (7) constată că mărirea dozei de azot nu a dus la sporuri de recoltă. La variantele la care azotul a fost dat combinat cu fosforul sau cu potasiul, sporul de producţie a fost practic egal. Aplicînd îngrăşămînt complet de azot, fosfor şi potasiu, sporul de producţie absolut a crescut, însă coeficientul de acţiune utilă a scăzut.

A. Ghiula (10), în experienţe efectuate pe sol brun-roşcat de pădure de la Periş, arată că potasiul nu modifică recolta de porumb, valorile din varianta cu potasiu fiind apropiate de ale celei fără potasiu. În alte experienţe, efectuate pe acelaşi sol la grîu şi porumb, A. Ghiula (9) arată că îngrăşămintele de azot şi fosfor aplicate împreună sporesc în mod substanţial recolta.

Gh. Bîlteanu şi Al. Teodoriu (2), lucrînd cu cartof pe solul brun-roşcat de pădure de la Băneasa arată că dintre îngrăşămintele cu azot, fosfor şi potasiu prezintă importanţă numai azotul şi fosforul. Pe acest sol, cartoful nu reacţionează la potasiu.

Experimentînd în vase de vegetaţie, N. Zamfirescu şi colaboratori (20) constată că la cartof pe sol brun-roşcat de pădure sînt necesare îngrăşăminte complete cu azot, fosfor şi potasiu.

Experienţe efectuate cu sfeclă de zahăr pe solul brun-roşcat de pădure de la Săftica arată ca fiind necesare îngrăşămintele de azot

şi fosfor. Îngrăşămintele de potasiu adăugate la cele de azot şi fosfor nu au produs un spor de recoltă (14). Experienţele cu porumb hibrid efectuate la aceeaşi staţiune au demonstrat că acesta reacţionează favorabil numai la aplicarea îngrăşămintelor cu azot, nu şi la cele cu fosfor, aplicate singure sau împreună cu cele de azot. De asemenea nu reacţionează la administrarea îngrăşămintelor cu potasiu (8).

La floarea-soarelui cultivată pe solul brun-roşcat de pădure de la Voluntari (jud. Ilfov), V. Caravan (3) constată că administrarea îngrăşămintelor de potasiu împreună cu cele de azot şi fosfor duce la o mărire a recoltei.

Rezultatele experienţelor cu grîu, executate la staţiunea Şimnicu — Oltenia pe sol brun-roşcat de pădure slab podzolit, arată o creştere însemnată a producţiei în cazul folosirii îngrăşămintelor de azot şi fosfor. Adăugarea de sare potasică, pe lîngă azot şi fosfor, a sporit numai în mică măsură recolta (16).

N. Sălăgeanu (18), folosind metoda cunoaşterii nevoii de elemente minerale a plantelor cu ajutorul unor alge, a ajuns la rezultate similare celor obţinute în cîmp şi în vase de vegetaţie prin experimentări cu soluri brun-roşcate de pădure de la Moara Domnească şi Pantelimon.

Plantele reacţionează la îngrăşămintele chimice cu azot, fosfor şi potasiu prin creşterea suprafeţei foliare, a înălţimii tulpinii, a cantităţii de boabe şi a greutăţii organelor vegetative, cu excepţia rădăcinii.

Dintre fenomenele fiziologice cercetate creşte simţitor mai ales fotosinteza la plantele care au primit substanţele chimice de care au nevoie — azot, fosfor şi potasiu —, în timp ce consumul de substanţe prin respiraţie scade. La aceasta se mai adaugă şi faptul că suprafaţa foliară este mai mare la plantele care au primit NPK, astfel că sporul de producţie se explică prin creşterea atît a suprafeţei foliare totale, cît şi a intensităţii fotosintezei la unitatea de suprafaţă foliară.

CONCLUZII

În vase de vegetaţie Mitscherlich de 9,5 kg sol, plantele de ovăz au crescut mai bine în înălţime, suprafaţă foliară dînd un spor de producţie în variantele cu NPK. Deosebirile dintre plantele din variantele $N_2P_1K_1$ şi N_2P_1 sînt relativ mici atît în ceea ce priveşte înălţimea tulpinii, suprafaţa foliară, cît şi greutatea boabelor.

În vasele cu un singur macroelement, plantele au reacţionat mai puternic faţă de azot şi mult mai slab faţă de fosfor şi potasiu. În variantele cu două macroelemente, ele au reacţionat cel mai bine la NP.

Îngrăşămintele chimice măresc substanţa uscată a boabelor, a frunzelor, în măsură mai mică a tulpinii şi în cea mai mică măsură a rădăcinii.

Intensitatea fotosintezei a decurs într-un mod asemănător cu creşterea substanţei uscate a plantelor, valoarea maximă fiind la frunzele plantelor din varianta $N_2P_2K_1$.

Intensitatea respiraţiei cea mai mare a fost înregistrată la frunzele din varianta P_1K_1 şi cea mai mică la frunzele din varianta $N_2P_2K_1$.

Transpirația mai intensă a fost la frunzele plantelor care au primit N_1, N_1P_1 și $N_2P_2K_1$.

Coeficientul economic al transpirației cel mai ridicat a fost la plantele de control și cel mai mic la plantele care au primit $N_2P_2K_1$.

Cantitatea de proteine crește la variantele la care s-a administrat azot singur sau în amestec cu fosfor și potasiu.

BIBLIOGRAFIE

1. ARRHENIUS O., Z. f. Pfl., Dung. u. Bod., 1933, *32*.
2. BÎLTEANU GH. și TEODORIU AL., Lucr. științ. Inst. agron. ,,N. Bălcescu'', 1965, **VIII**, seria A, 337–344.
3. CARAVAN V., Lucr. științ. Inst. agron. ,,N. Bălcescu'', 1962, **VI**, seria A, 145–153.
4. DALAS M., DAVIDESCU D. și VINEȘ I., Anal. I.C.A.R., 1960, **XXVIII**, seria A, 121–133.
5. DAVIDESCU D., BÎRSAN N., AVRAM P. și colab., Anal. I.C.A.R., 1956, **XXIV**, seria A, 47–69.
6. DAVIDESCU D., DALAS M. și VINEȘ I., Anal. I.C.A.R., 1958, **XXVI**, seria A, 55–72.
7. DAVIDESCU D. și VINEȘ I., Lucr. științ. Inst. agron. ,,N. Bălcescu'', 1962, **VI**, seria A, 85–88.
8. DINCĂ D. și MOSCALU T., *Cultura porumbului*, Edit. agrosilvică, București, 1967, 106.
9. GHIULA A., Lucr. științ. Inst. agron. ,,N. Bălcescu'', 1964, **VII**, seria A, 115–130.
10. — Lucr. științ. Inst. agron. ,,N. Bălcescu'', 1965, **VIII**, seria A, 71–80.
11. IONESCU-ȘIȘEȘTI G., Anal. I.C.A.R., 1930, **1**, 193–209.
12. IONESCU-ȘIȘEȘTI G. și COCULESCU GR., Anal. I.C.A.R., 1935, **VII**, 3–65.
13. КИРСАНОВ А. Т., Химиз. соц. земледелия, 1933, *6*, 140—142.
14. MUREȘAN T., Probl. agric., 1964, *4*, 46–71.
15. НИЧИПОРОВИЧ А. А., СТРОГОНОВА Л. Е., ЧИМОВА К. Н. и ВЛАСОВА М. П., *Фотосинтетическая деятельность растений в посевах*, Изд. Акад. наук СССР, Москва, 1961, 34—39.
16. POP L. și COIFAN M., Probl. agric., 1962, *8*, 48–56.
17. SĂLĂGEANU N., Rev. de Biol., 1962, **7**, *2*, 181–192.
18. — Rev. roum. Biol., Série de Botanique, 1968, **13**, *3*.
19. ТЮРИН И.Б., Почвоведение, 1933, *2*.
20. ZAMFIRESCU N., VALUȚĂ Gh., BÎLTEANU GH. și VOICA R., Probl. agric., 1959, *2*, 18–24.

Institutul de biologie ,,Traian Săvulescu'', Secția de fiziologie vegetală.

Primit în redacție la 28 mai 1968.

FOTOSINTEZA ȘI TRANSPORTUL ASIMILATELOR ÎN DECURSUL COACERII FRUCTELOR LA *FRAGARIA* SP.

DE

GEORGETA FABIAN-GALAN

581.145.2 : 581.132.1 : 582.734

In *Fragaria sp.* with fruits in various stages of maturity an obvious decrease of the intensity of photosynthesis and transport of assimilated substances was observed in the overripe fruits. The amount of radioactive substances present in the fruits points not only to the intense growth but also to the accumulation of substances. The presence of high amounts of amino acids is the best indication of the growth rate of fruits and organs. During fructification, the vegetative growth of plants is reduced. In *Fragaria sp.* the transport of high amounts of assimilated substances in the rhizome and roots, after the ripening of fruits shows that a new period of vegetative growth of the plant is possible.

Rezultatele obținute în cercetările referitoare la oscilațiile intensității fotosintezei și a transportului asimilatelor în plante în decursul dezvoltării fructelor ne-au determinat să continuăm aceste cercetări și în decursul coacerii acestora.

Ca material experimental am folosit *Fragaria* sp. De la plante cu fruct copt, cu fruct trecut și cu fruct în diferite faze de creștere și coacere s-a luat frunza matură de sub pețiolul fructelor și s-a introdus într-o cameră de asimilație, prin care s-a trecut în circuit închis un curent de aer cu $C^{14}O_2$ în concentrație de 1% CO_2 și cu o radioactivitate de 100 μCi la litru de aer, timp de 30 min. După întreruperea curentului cu $C^{14}O_2$, plantele au fost lăsate în aer liber încă două ore și 30 min, cînd s-a fixat materialul. Fiecare plantă a fost divizată în următoarele părți: frunza asimilatoare, pețiolul frunzei, pedunculul fructului, fructe de fiecare categorie, rizom și rădăcini. Materialul fiecărei probe s-a prelucrat după M. L. Champigny (1) și I. Gyr (6). S-a efectuat contajul radioactivității substanțelor solubile — glucide, aminoacizi și acizi organici — și al substanțelor insolubile și precipitate. Componentele substanțelor solubile s-au separat pe cale cromatografică, iar radioactivitatea lor s-a detectat prin autoradiografierea cromatogramelor.

Tabelul nr. 1

Radioactivitatea substanțelor transportate în imp.min(sgh) la *Fragaria* sp.

Faza de vegetație	Radioactivitatea totală a substanțelor solubile și insolubile transportate	Radioactivitatea totală a substanțelor solubile transportate	Felul substanțelor	Radioactivitatea substanțelor solubile transportate	Radioactivitatea substanțelor solubile netransportate	Intensitatea fotosintezei
Căpșuni cu fructe coapte	228 279	166 490	glucide	155 545	370 087	1 009 231
			aminoacizi	2 417	8 744	
			acizi organici	8 528	28 354	
Căpșuni cu fructe trecute	89 485	69 738	glucide	63 278	381 839	780 259
			aminoacizi	2 438	9 607	
			acizi orgainci	3 922	23 772	
Căpșuni cu fructe de diferite mărimi	567 456	507 362	glucide	487 810	277 034	1 135 805
			aminoacizi	8 312	11 987	
			acizi organici	11 140	71 002	

Experiența a fost efectuată în după-amiaza zilei de 3.V.1967, între orele 15,50 și 18,50. În timpul experienței, intensitatea luminii a oscilat între 29 000 și 25 000 de lucși, iar temperatura între 28 și 25°C. În cele ce urmează dăm rezultatele obținute.

Astfel, din tabelul nr. 1 se constată că intensitatea fotosintezei este cu mult mai mică la plante cu fruct trecut față de intensitatea fotosintezei plantelor cu fruct copt sau cu fruct în diferite faze de creștere și coacere. Radioactivitatea substanțelor din celelalte părți ale plantei, în afară de frunzele asimilatoare, oscilează în același sens cu intensitatea fotosintezei, fie că este vorba de substanțe solubile și insolubile global, fie că este vorba de glucide, aminoacizi sau acizi organici. În ceea ce privește substanțele netransportate din frunzele asimilatoare, reiese că glucidele se găsesc în cantități mai mari în frunzele plantei cu fruct trecut și copt; în schimb, aminoacizii și acizii organici se găsesc în cantități mari atît în frunze, cît și în restul plantei atunci cînd planta are fructe în diferite faze de creștere și coacere.

Datele obținute confirmă încă o dată părerea noastră referitoare la paralelismul dintre intensitatea fotosintezei (3), (4), cantitatea și felul substanțelor sintetizate și cantitatea și felul substanțelor transportate. Datele mai arată că, atunci cînd necesitatea pentru asimilate scade, și intensitatea fotosintezei și a transportului diminuează și invers.

În tabelul nr. 2 se prezintă repartizarea substanțelor radioactive în fructul copt (F1), în fructul trecut (F2) și în fructul aflat în diferite faze de creștere și coacere (F3). La F3, oscilațiile cantitative sînt în legătură nu numai cu faza de creștere a fructului sau a diferitelor părți ale lui

Tabelul nr. 2

Radioactivitatea substanțelor transportate în plante în imp./min (sgh) la *Fragaria* sp.

Felul substanțelor	F_1	F_2	F_3			
	fruct copt	fruct trecut	fruct copt	fruct cu creștere terminată	fruct în creștere	fruct format (mic)
Glucide	3 086	81	4 304	191	1 515	30
Aminoacizi	103	196	202	75	428	5 132
Acizi organici	197	49	93	166	85	3 320
Insolubile	448	34	115	213	188	5 502
Radioactivitatea totală	3 834	360	4704	645	2 216	13 984

(seminţe sau pulpă), ci și cu locul de inserție a fructului pe peduncul (fig.1). Cantitatea mare de aminoacizi și acizi organici din fructul mic arată că în perioada respectivă se formează semințele. La *Fragaria*, formarea și dezvoltarea semințelor au loc înaintea dezvoltării receptaculului floral, numit impropriu fruct. În tabel se mai poate vedea prezența în fructele coapte a unor cantități mari de glucide. Aceasta arată că în faza de coacere în fructe se acumulează o cantitate mare de asemenea substanțe.

În cele ce urmează vom prezenta distribuţia asimilatelor în diferitele părţi ale plantei în perioada de coacere a fructelor.

Din figura 2 se vede că la plantele cu fruct copt rafinoza şi o substanţă neidentificată situată sub rafinoză (stachioză, după literatură) zaharoza şi o substanţă necunoscută situată deasupra ei au trecut atît în peţiolul frunzei, în pedunculul fructului, în fruct, în rizom, cît şi în rădăcină. Glucoza şi fructoza apar în cantităţi mici în peţiolul frunzei şi în pedunculul fructului şi, ca urmare, şi în rizom şi rădăcină.

La planta cu fruct trecut (fig. 3), rafinoza ajunge pînă în fruct ca urme, iar zaharoza şi cantităţi infime din substanţa necunoscută de deasupra zaharozei ajung pînă în rădăcină; în fruct nu apar.

În ceea ce priveşte planta cu fructe de diferite mărimi (fig. 4), rafinoza apare în peţiol, peduncul, fructul copt şi în rizom, zaharoza şi substanţa necunoscută se găsesc în peţiol, peduncul, rizom şi rădăcină, iar glucoza şi fructoza în peţiol, peduncul şi rizom. În fructul copt se găsesc substanţele necunoscute de sub zaharoză şi rafinoză. În fructul în creştere, aceleaşi zaharuri apar în cantităţi ceva mai mari faţă de fructul format şi de cel mic.

În ceea ce priveşte transportul de glucide în rădăcini, se constată o migrare a zaharurilor în cantităţi mari la plantele cu fructul copt; la plantele cu fruct în diferite faze de creştere şi la cele cu fruct trecut, transportul de zaharuri în rădăcini este redus.

Transportul aminoacizilor în diferitele părţi ale plantei cu fruct copt este ilustrat în figura 5. Astfel, din frunze trec în peţiol fenilalanina, valina, acidul γ-aminobutiric şi o substanţă necunoscută, pe care o găsim în cantităţi mici şi în pedunculul fructului. Alanina, acidul glutamic, acidul aspartic şi glutamina trec în peţiolul frunzei, în peduncul şi în fruct, unde cantitatea de acid glutamic şi cea de glutamină sînt relativ mari.

În plantele cu fruct trecut (fig. 6), în peţiolul frunzei trec acidul glutamic şi acidul aspartic, iar alanina în cantităţi foarte mici. În fruct apare glutamina într-o cantitate relativ mică; în schimb, în rizom găsim lizină şi glutamină în proporţie mai mare decît în frunze.

La planta cu fruct în diferite faze de creştere (fig. 7), au trecut în peţiolul frunzei alanina, acizii glutamic şi aspartic, precum şi glutamina. Aceiaşi aminoacizi, dar în cantităţi mai mici, sînt în pedunculul fructului. În fructul copt găsim alanină, acizii glutamic şi aspartic; în fructul format apar glutamină şi acid glutamic (urme). În rizom, acidul glutamic, acidul aspartic şi glutamina se găsesc în cantităţi foarte mici. Dintre aminoacizii din plante pare mai mobil acidul glutamic.

Autoradiograma cromatogramei amino acizilor din fructe efectuată cu cantităţi crescînde de material arată că, pe lîngă aminoacizii detectaţi, apare şi acidul γ-aminobutiric.

Din figura 8, care reprezintă autoradiografia cromatogramei acizilor organici din planta cu fructul copt, se poate constata că, deşi în peţiolul frunzei au trecut aproape toţi acizii organici care s-au găsit în frunze, în pedunculul fructului nu găsim decît o substanţă necunoscută situată deasupra acidului malic şi compuşi cu fosfor. În fructul copt apar urme de compuşi cu fosfor, iar în rizom şi rădăcini aceste substanţe sînt în cantităţi mai mari decît în fruct.

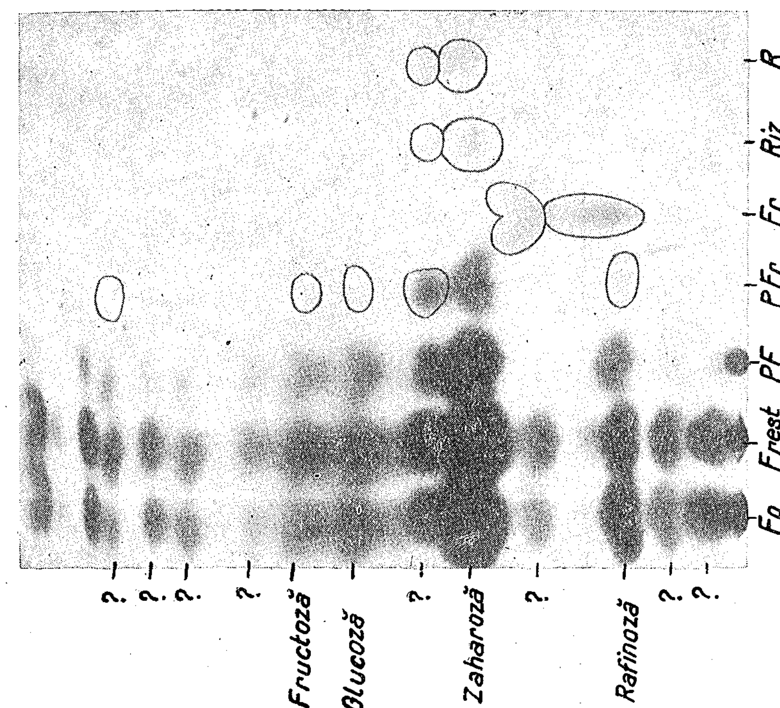




Fig. 1. — Autoradiografia plantelor de *Fragaria* sp. cu fruct în diferite faze de creştere.

Fig. 2. — Glucide transportate şi rămase în frunze la *Fragaria* cu fruct copt.

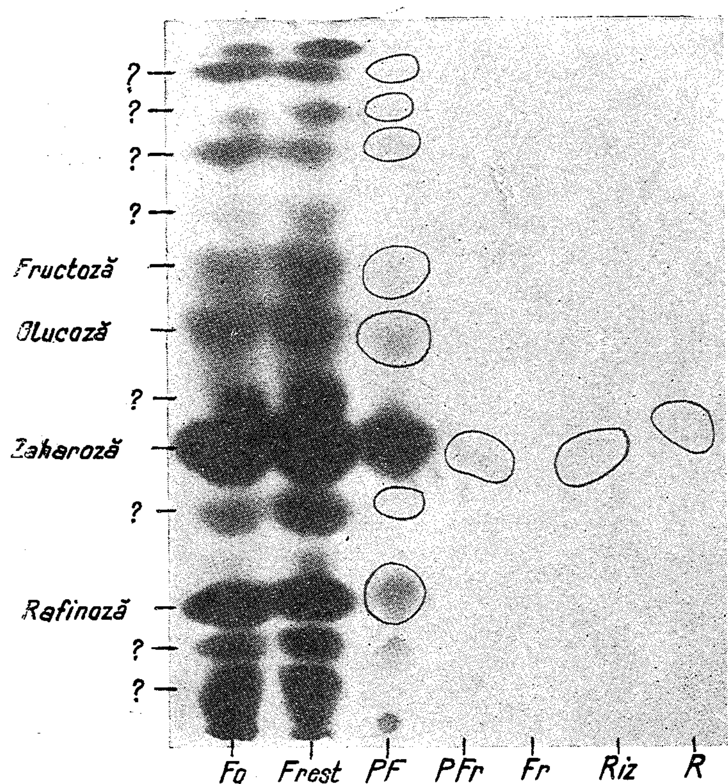


Fig. 3. — Glucide transportate şi rămase în frunze la *Fragaria* cu fruct trecut.

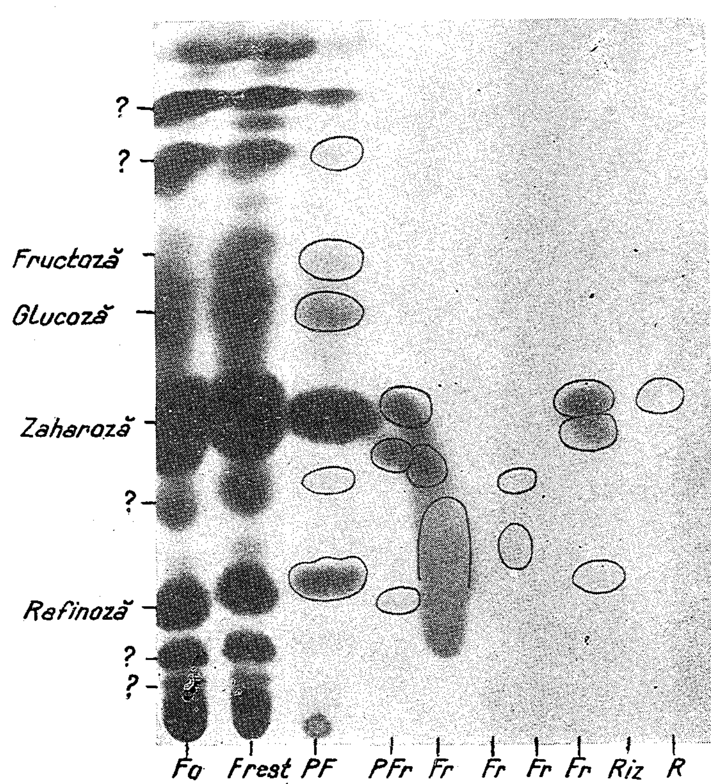


Fig. 4. — Glucide transportate şi rămase în frunze la *Fragaria* cu fruct în diferite faze de creştere.

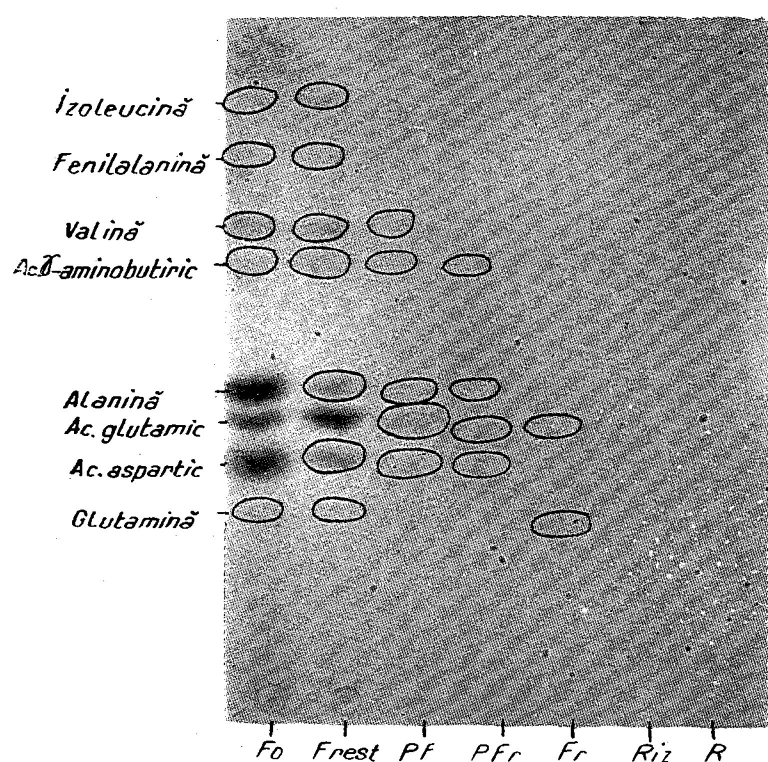


Fig. 5. — Aminoacizii transportaţi şi rămaşi în frunze la *Fragaria* cu fruct copt.

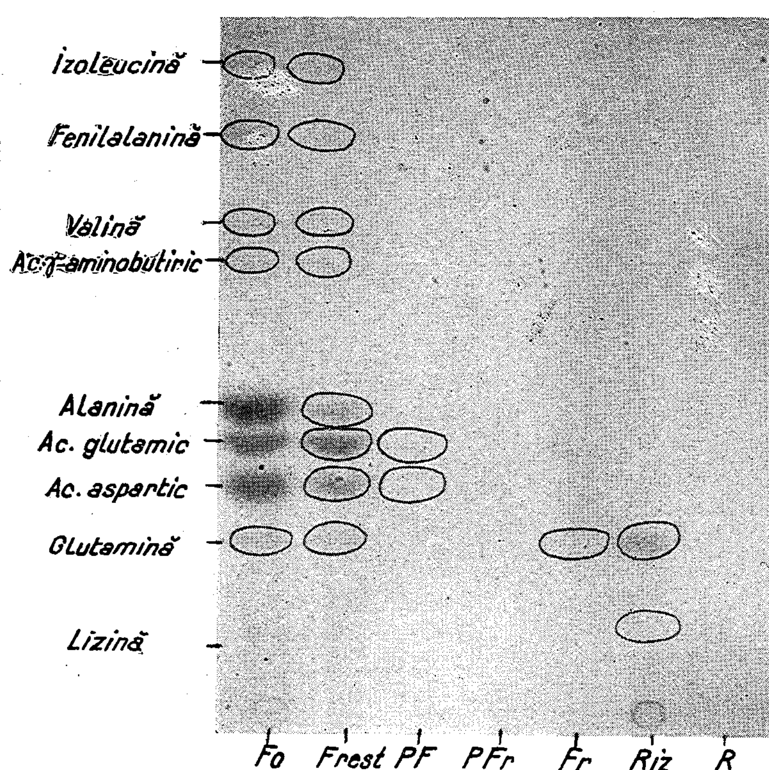


Fig. 6. — Aminoacizii transportaţi şi rămaşi în frunze la *Fragaria* cu fruct trecut.

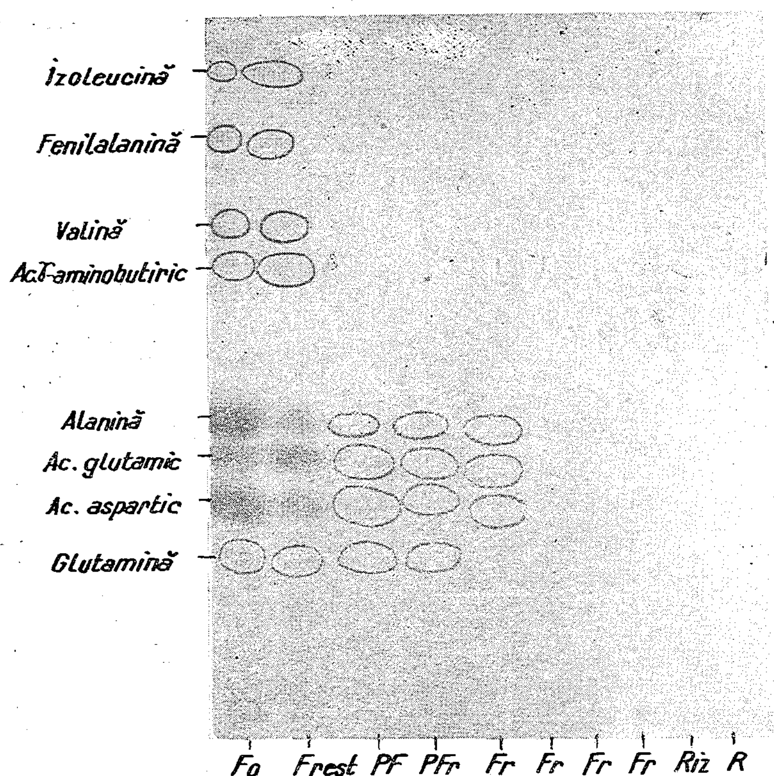


Fig. 7. — Aminoacizii transportați și rămași în frunză la *Fragaria* cu fruct în diferite faze de creștere.

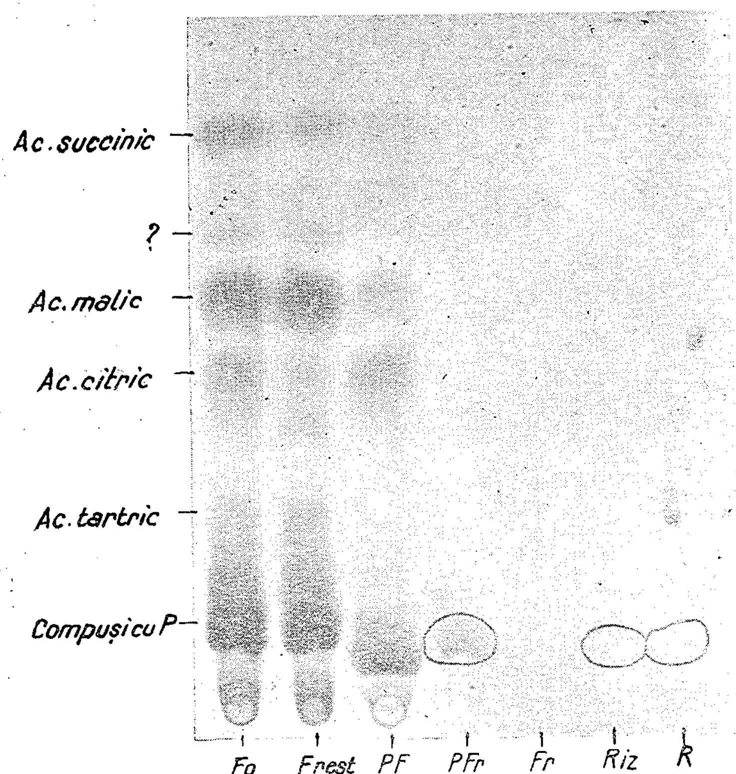


Fig. 8. — Acizii organici transportați și rămași în frunze la *Fragaria* cu fruct copt.

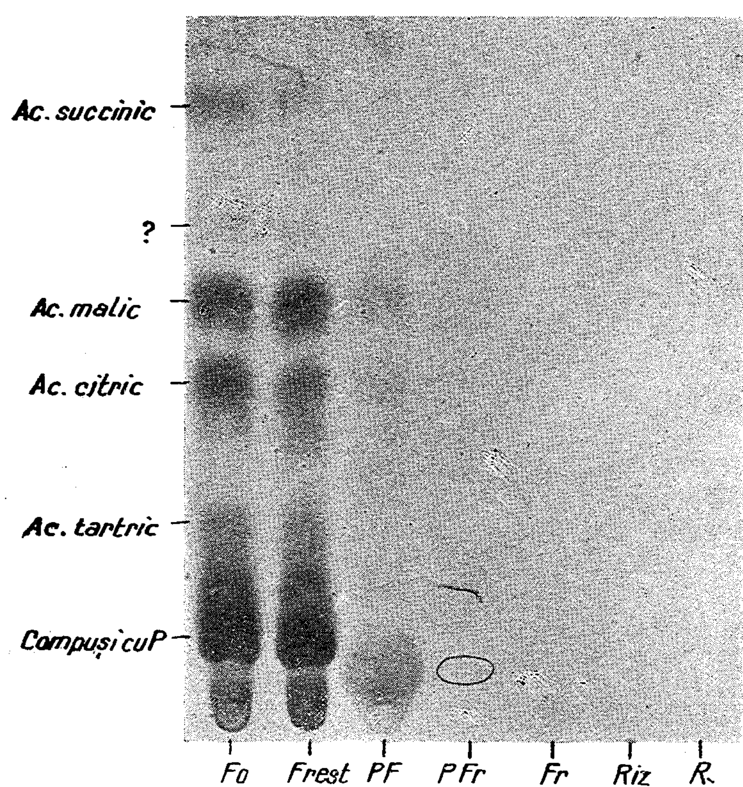


Fig. 9. — Acizii organici transportați și rămași în frunze la *Fragaria* cu fruct trecut.

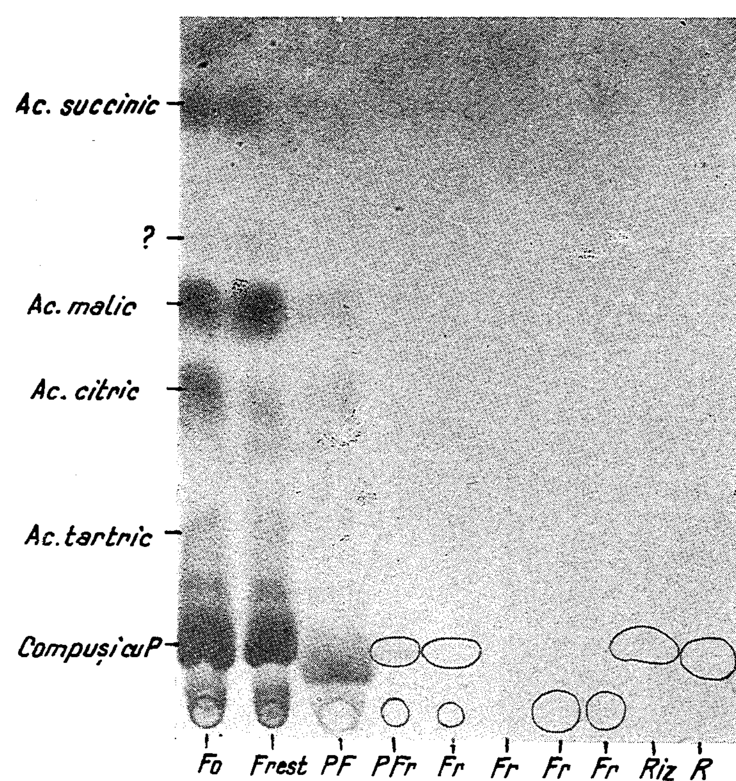


Fig. 10. — Acizii organici transportați și rămași în frunze la *Fragaria* cu fruct în diferite faze de creștere.

Autoradiograma acizilor organici din plantele cu fruct trecut (fig. 9) este asemănătoare cu cea din figura 8, cu deosebirea că acizii organici trecuţi în peţiolul frunzei sînt în cantităţi mai mici ; în pedunculul fructului găsim doar urme de compuşi cu fosfor, iar în fruct, rizom şi rădăcină nu apar nici un fel de substanţe radioactive.

În ceea ce priveşte acizii organici din planta cu fruct în diferite stadii (fig. 10), se poate constata prezenţa compuşilor cu fosfor şi în pedunculul fructului. În fructul copt, în fructul în creştere şi în fructul abia format, ca şi în rizom, apar urme de compuşi cu fosfor ; în schimb, în fructul în pîrg şi în rădăcini nu apar substanţe radioactive. Autoradiograma cromatogramei fructelor efectuată cu cantităţi crescute de material arată că în fructul în coacere apare, pe lîngă compuşi cu fosfor şi acidul malic. În fructul în creştere se observă cantităţi mari de compuşi cu fosfor, iar în fructul în pîrg urme de astfel de substanţe.

DISCUŢII

Rezultatele noastre arată că atît intensitatea fotosintezei, cît şi transportul asimilatelor se micşorează mult la plantele cu fruct trecut în comparaţie cu intensitatea asimilaţiei şi a transportului de la plantele cu fruct copt sau cu fruct în diferite faze de creştere.

Micşorarea intensităţii transportului de asimilate în planta cu fruct trecut reiese clar după cantităţile mici de glucide, aminoacizi, acizi organici şi compuşi cu fosfor din peţiolul frunzelor asimilatoare în comparaţie cu cantităţile din peţiolurile frunzelor celorlalte plante. Această micşorare se poate explica atît prin cerinţa aproape nulă pentru asimilate a fructului trecut faţă de a celor coapte şi în dezvoltare, cît şi prin faptul că în timpul fructificării plantele au o viteză de creştere vegetativă slabă. La mărul cu fructe, P. H a n s e n (7) a găsit o asimilaţie netă mai mare decît la cel fără fructe, iar Z. S t a r c k (9), prin îndepărtarea plantulelor-fiice de pe stolonii de la căpşuni, a observat o micşorare a migrării asimilatelor din planta-mamă.

Rezultatele noastre mai arată că la un moment dat, locul de migrare a asimilatelor, este diferit, ceea ce demonstrează că plantele, respectiv, organele lor, nu cresc cu aceeaşi viteză, în acelaşi timp, ci oarecum pe rînd. Prezenţa de substanţe în cantitate mare într-un organ sau altul, dar în special în fructe, poate arăta o creştere intensă a acestuia, însă mai poate arăta şi o acumulare de substanţe în organul respectiv. Deosebirea o putem face după felul substanţelor sintetizate şi transportate, care diferă de la caz la caz : mai multe glucide în fructul copt, în care acestea se acumulează ; mai mulţi aminoacizi şi compuşi cu fosfor în fructul mic atunci cînd la acesta se formează seminţele (proces care la căpşuni are loc înaintea creşterii fructului), în fructul în creştere (în cazul nostru cînd se dezvoltă receptaculul floral), în rădăcini şi rizomi atunci cînd fructul este copt şi trecut. Faptul că în rizomii plantei cu fruct trecut s-a găsit o cantitate mare de aminoacizi ne face să credem că după fructificare la *Fragaria* este posibilă apariţia unei noi perioade de creştere vegetativă. După L. K o f l e r (8), creşterea în lungime a celulelor se caracterizează

printr-o creştere a proteogenezei şi o reducere a cantităţii de zaharuri. G. Goas (5) a observat oscilaţii în cantitatea de aminoacizi aflaţi în diferitele părţi ale plantei de mazăre în timpul fructificării. Legătura strînsă dintre substanţele sintetizate şi transportate, observată de noi şi cu ocazia altor cercetări (3), (4), este confirmată şi de J. W. Davies (2), care arată că aprovizionarea cu aminoacizi pe cale fotosintetică în timpul dezvoltării fructelor la tomate este mai rapidă decît pe cale exogenă.

Intensitatea fotosintezei, prezenţa fructelor, fazele lor de dezvoltare sînt factori determinanţi ai intensităţii transportului de asimilate şi a direcţiei de transport al asimilatelor.

Asupra modului cum se efectuează această determinare mai trebuie insistat. G. B. Sweet şi F. P. Wareing (10) arată că este posibil ca schimbările în viteza fotosintezei să fie produse de schimbările în viteza transportului, iar transportul să fie provocat parţial de cantitatea de auxină.

CONCLUZII

1. În perioada de fructificare, intensitatea fotosintezei şi transportul asimilatelor oscilează în funcţie de faza de dezvoltare a fructelor.

2. Atît intensitatea fotosintezei, cît şi transportul de asimilate scad vizibil la plantele cu fruct trecut.

3. La sfîrşitul perioadei de fructificare, o cantitate relativ mare de asimilate migrează în rizomi şi rădăcini.

4. În timpul fructificării, creşterea vegetativă a plantelor este redusă; după această perioadă, în funcţie de specie, poate urma o nouă perioadă de creştere vegetativă.

5. Cantitatea mare de substanţe radioactive din organele plantelor denotă nu numai o creştere intensă a acestora, ci, depinzînd de natura organului (fructului), şi o acumulare de substanţe în el.

6. În organele care se află în creştere intensă se transportă relativ mai mulţi aminoacizi şi compuşi cu fosfor; în schimb, în organele deja crescute se transportă mai multe glucide.

BIBLIOGRAFIE

1. Champigny M. L., *Thèses*, Librairie Générale de L'Enseignement, Paris, 1960.
2. Davies J. W. u. Cocking E. C., Planta (Berlin), 1967, **76**, *3*, 285–305.
3. Fabian-Galan G., St. şi cerc. biol., Seria botanică, 1966, **18**, *3*, 271–280.
4. — St. şi cerc. biol., Seria botanică, 1967, **19**, *2*, 151–158.
5. Goas G., C. R. Acad. Sci., Paris, 1966, seria D, **262**, 1534–1537.
6. Gyr I., *Thèses*, Librairie Générale de l'Enseignement, Paris, 1960.
7. Hansen P., Physiol. Plant., 1967, **20**, *2*, 282–391.
8. Kofler L., *Croissance et développement de plantes*, Gauthier-Villars, Paris, 1963.
9. Starck Z., Acta Soc. Bot. Polon., 1966, **35**, *2*, 337–348.
10. Sweet G. B. a. Wareing P. F., Nature, 1966, **210**, *5031*, 77–79.

Institutul de biologie „Traian Săvulescu", Secţia de fiziologie vegetală.

Primit în redacţie la 13 martie 1968.

ASPECTE NOI ÎN PROBLEMA INFECŢIEI PLANTELOR DE ORZ CU SPECIA *USTILAGO NUDA*

DE

D. BECERESCU

581.2 : 582.285.12

On the basis of experimental data, the conclusion is reached that, by inoculation of barley seedlings in the growth stage of the coleoptyl cut off at 2 mm from the tip, ears are obtained parasitized by the species *Ustilago nuda*. The degree of infection being high and similar to the one recorded in the case of floral infection, it is considered that the inoculation method employed offers multiple possibilities of being successfully utilized in various researches on loose smut in barley. The possibility of seedling infection with the species *Ustilago nuda* gives the author the possibility of making certain considerations concerning the specificity of its manner of infection and direction of evolution in the species of *Ustilago* with floral infection.

În cadrul cercetărilor noastre (1) asupra răspîndirii, biologiei şi combaterii speciilor de *Ustilago* parazite pe orz, am folosit o serie de metode privind obţinerea infecţiilor experimentale. Dintre acestea, cele referitoare la infecţia cu specia *U. nuda* (Jens.) Rostrup au cuprins, alături de procedee de inoculare aplicate în cursul perioadei de înflorire a plantelor de orz, şi o metodă de inoculare a plăntuţelor în primele faze de creştere a coleoptilului.

Prin introducerea acestei metode de inoculare, indicată şi folosită anterior de J. B. Rowell şi J. E. Devay (5) şi de D. Becerescu (citat după (6)) în infecţiile cu ciuperca *U. zeae* (Beckm.) Ung. la porumb, ne-am propus să obţinem informaţii asupra unor posibilităţi noi de infecţie cu specia *U. nuda*, cunoscut fiind faptul că pentru acest important parazit al orzului este unanim acceptată în prezent numai existenţa exclusivă a modului de infecţie florală.

MATERIAL ŞI METODĂ

S-au folosit două soiuri de orz (Cenad 396 şi Odesa) aparţinînd speciei *Hordeum vulgare* L. var. *pallidum* Sér. şi un soi de orzoaică (Cluj 123) aparţinînd speciei *H. distichum* L. var. *nutans* Schübl. Din observaţiile făcute de amelioratori asupra infecţiilor naturale cu tăciune

zburător, rezultă că soiurile de orz menţionate se caracterizează prin sensibilitate, iar soiul de orzoaică prin rezistenţă faţă de ciuperca *U. nuda*.

Pentru infecţii s-au folosit teliosporii speciei *U. nuda*, recoltaţi din raza staţiunii Moara Domnească (jud. Ilfov) şi păstraţi la temperaturi joase (2–6°C). Puritatea şi viabilitatea materialului de infecţie au fost controlate pe baza probei de germinaţie, efectuată cu două zile mai înainte de momentul folosirii.

Cariopsele soiurilor menţionate [1], în prealabil dezinfectate cu formalină, au fost puse la germinat pe hîrtie de filtru în vase Petri. În momentul cînd coleoptilele formate aveau o lungime de 0,5–1 cm, acestea au fost decapitate la distanţa de 2 mm de la vîrf. Plăntuţele astfel pregătite au fost introduse şi menţinute în suspensii preparate cu cantităţi diferite de teliospori, sub vacuum de 80–90 mm, timp de 20 min. Plăntuţele au fost repicate ulterior în seră şi cîmp, în patru repetiţii, fiecare repetiţie cuprinzînd 25 şi, respectiv, 100 de exemplare.

Pentru aprecierea eficienţei metodei de inoculare s-au luat în consideraţie procentul de răsărire a plantelor şi gradul de infecţie, exprimat prin procentele de spice parazitate de ciuperca *U. nuda* în raport cu cantitatea de teliospori din inoculum.

REZULTATE

Din analiza rezultatelor prezentate în tabelul nr. 1 reiese în mod semnificativ faptul că, prin inocularea plăntuţelor de orz în faza de creştere a coleoptilului (0,5–1 cm lungime), decapitat la 2 mm de la vîrf, se obţin

Tabelul nr. 1

Rezultatele infecţiilor cu ciuperca *Ustilago nuda* (Jens.) Rostrup la plăntuţele de orz

Cantitatea de teliospori		Soiurile																	
		Cenad 396								Odesa						Cluj 123			
		% plante răsărite		% spice infectate				% plante răsărite		% spice infectate				% plante răsărite		% spice infectate			
				seră		cîmp				seră		cîmp				seră		cîmp	
g/l	R*	seră	cîmp	%	r**	%	r	seră	cîmp	%	r	%	r	seră	cîmp	%	r	%	r
10,0	10	89	91	73	1,1	82	1,1	75	82	69	1,1	75	1,0	81	79	80	?	82	1,0
5,0	5	84	88	68	1,3	70	1,3	88	76	61	?	71	1,1	87	83	81	1,2	80	1,0
1,0	10	88	80	51	1,1	55	1,3	83	81	64	1,3	63	1,2	79	89	63	1,6	74	1,5
0,1	10	85	82	43	2,5	40	3,3	77	72	49	2,5	51	2,4	85	78	44	1,1	48	1,5
0,01	10	79	86	17	4,2	12	6	86	80	19	3,1	21	2,3	88	81	37	2,1	31	2,3
0,001	10	83	78	4	4	2	2	81	78	6	6	9	9	81	75	17	17	13	13
0,0		87	82	0		0		89	83	0		0		76	87	0		0	

* R = rata de creştere a cantităţilor de teliospori din suspensia de inoculate.
** r = rata de creştere a procentului de spice infectate.

spice parazitate de ciuperca *U. nuda* [2]. Gradul de infecţie obţinut fiind destul de mare şi asemănător valoric cu cel înregistrat în mod obişnuit în cazul infecţiilor florale, considerăm că faptul constatat este bine asigurat din acest punct de vedere şi ca atare nici calculele statistice nu sînt necesare a fi efectuate.

Procentele de infecţie realizate variază în raport cu soiul de orz şi cantitatea de teliospori existentă în suspensia folosită la inoculare. Aceste procente de infecţie cresc, în cazul fiecărui soi, pe măsură ce se măreşte şi cantitatea de teliospori din suspensia de inoculare. În general, aceste procente sînt mai mari în cazul soiului Cluj 123 şi al suspensiilor de inoculare preparate cu cantităţi mai mari de teliospori.

Diferenţa dintre procentele de infecţie corespunzătoare diferitelor soiuri este mai evidentă în cazurile în care la inoculare s-au folosit suspensii preparate din cantităţi mici de teliospori. Pe măsură ce creşte cantitatea de teliospori din suspensia de inoculare, se reduce şi diferenţa dintre procentele de infecţie corespunzătoare diferitelor soiuri.

Diferenţa dintre procentele de infecţie corespunzătoare suspensiilor de inoculare preparate cu diferite cantităţi de teliospori este evidentă şi asigurată în toate cazurile, cu excepţia situaţiilor cînd în seră la soiurile Cluj 123 şi Odesa se înregistrează procente de infecţie cu puţin mai mici pentru unele dintre cantităţile mai mari de teliospori în suspensia de inoculare.

De remarcat este faptul că rata de creştere a procentelor de infecţie nu este egală şi nici proporţională cu rata de creştere a cantităţii de teliospori din suspensiile de inoculare; de asemenea se observă că această rată descreşte pe măsură ce în suspensia folosită la inoculare creşte cantitatea de teliospori.

În ceea ce priveşte comportarea plantelor, se constată o scădere generală a procentului de răsărire, care însă nu afectează în mod profund obţinerea unui număr de plante, suficient de mare, infectate cu ciuperca

[1] Cariopsele au fost obţinute de la plante sănătoase şi cu spicele izolate în vederea prevenirii infecţiilor străine.
[2] Identificarea s-a făcut pe baza morfologiei şi germinaţiei teliosporilor.

U. nuda. Menţionăm că reducerea răsăririi plantelor a fost constatată în cursul cercetărilor noastre numai în experienţele în care s-a aplicat această metodă de inoculare.

DISCUŢII ŞI CONCLUZII

De la descoperirea făcută de Maddox în 1895, cu privire la obţinerea tăciunelui zburător prin pulverizarea ovarelor cu teliospori în cursul perioadei de înflorire a plantelor de orz şi de grîu, cercetările în problema infecţiei cu speciile *U. nuda* şi *U. tritici*, efectuate atît în seră, cît şi în cîmp, s-au bazat pe metode care folosesc, în principiu tehnica inoculării florilor.

În această perioadă au existat şi unele încercări de a obţine tăciunele zburător la orz pe o cale diferită de cea florală. Astfel, R. Vanderwalle (8), în 1935, reuşeşte să obţină un procent scăzut de infecţie prin introducerea miceliului ciupercii *U. nuda* în ţesuturile embrionilor de la seminţele de orz. V. F. Tapke (7), în 1955, prin introducerea seminţelor cu embrionul descoperit într-o suspensie de teliospori ai ciupercii *U. nuda*, obţine o infecţie în proporţie de numai 9,4%. T. Kavanagh (3), R. Vanderwalle şi G. Sommereyns (9), (10), aplicînd la orz şi grîu metoda inoculării plăntuţelor, folosită anterior de J. B. Rowell şi J. E. Devay (5) şi de D. Becerescu (citat după (6)), reuşesc să obţină un procent ridicat de infecţie cu speciile *U. nuda* şi *U. tritici*.

Rezultatele pozitive înregistrate de noi (1) prin inocularea artificială a ciupercii *U. nuda* la orz pe o cale diferită de cea florală se alătură celor obţinute ulterior în lucrările făcute de autorii menţionaţi şi pun în evidenţă faptul că, în anumite condiţii experimentale, specia *U. nuda* poate infecta şi alte organe ale plantelor de orz, în afară de ovarele florilor. În acelaşi timp, acest fapt ne demonstrează că la specia *U. nuda* modalitatea infecţiei pe cale germinală nu a dispărut total, situaţie care atrage atenţia din mai multe puncte de vedere.

În primul rînd, se pune problema şanselor de realizare în natură a acestei modalităţi de infecţie. Din datele pe care le avem în legătură cu posibilităţile de răspîndire şi cu caracterele biologice ale speciei *U. nuda*, s-ar părea că realizarea acestei modalităţi de infecţie în natură nu trebuie exclusă. În acelaşi timp este totuşi de presupus că în condiţii naturale infecţia plantelor de orz cu specia *U. nuda* pe această cale s-ar putea produce numai în proporţie extrem de redusă. Aceasta datorită faptului că inoculumul acumulat în sol este în cantitate foarte mică, chiar în cazul unor culturi de orz puternic atacate, iar capacitatea de germinaţie a teliosporilor în condiţiile din ţara noastră se reduce extrem de mult pînă în momentul semănatului. De asemenea, integritatea coleoptilului, afectată numai rareori în condiţiile de creştere a plăntuţelor în cîmp, împiedică producerea infecţiei într-o mare proporţie.

În al doilea rînd, prezenţa unei modalităţi de infecţie de acest fel la specia *U. nuda* impune revizuirea concepţiei actuale cu privire la exclusivitatea capacităţii ciupercilor care produc tăciune zburător de a infecta numai ţesuturile ovarului. S-ar părea că producerea infecţiei cu ajutorul

speciilor *U. nuda* şi *U. tritici* nu este corelată atît de mult cu realizarea unui anumit mod de infecţie[3], cît mai ales cu posibilitatea punerii în contact a inoculumului (miceliu sau teliospori) cu ţesuturile în curs de creştere din seminţe sau plante.

În al treilea rînd, prezenţa unei modalităţi de infecţie a plăntuţelor cu ciuperca *U. nuda* constituie un nou argument în favoarea ipotezei noastre, formulată anterior (1), (2) şi anume, că speciile de *Ustilago* cu tip de germinaţie hifofor şi modul de infecţie florală (internă-embrionară) derivă din speciile cu tip de germinaţie bazidiosporifer şi modul de infecţie germinală. Potrivit acestei ipoteze se consideră că specia *U. nuda* s-a desprins din cadrul speciei *U. nigra*, cu care are unele caractere morfologice şi fiziologice comune, dar de care se diferenţiază net prin tipul de germinaţie al teliosporilor şi modul de infecţie.

Nedispariţia totală a modului de infecţie germinală la ciuperca *U. nuda*, cunoscută pînă în prezent ca fiind o specie numai cu infecţie florală (internă-embrionară), evidenţiază tocmai faptul că această specie derivă din specia *U. nigra*. Schimbarea tipului de germinaţie a teliosporilor care s-a produs în cazul acesta a fost însoţită şi de schimbarea modului de infecţie, păstrîndu-se totuşi, într-o formă modificată, dar potenţială, modul de infecţie al speciei din care s-a desprins.

În acelaşi timp considerăm că existenţa modalităţii de infecţie germinală numai în stare potenţială la specia *U. nuda* ar putea fi interpretată şi ca expresie a unui fenomen de atavism. Remarcabil în acest caz este şi faptul că exprimarea concretă a acestui fenomen, pus în evidenţă pentru prima dată la ustilaginale, nu poate avea loc decît în anumite condiţii de infecţie a plantei-gazdă.

În ceea ce priveşte metoda de inoculare propriu-zisă trebuie să subliniem faptul că aceasta prezintă o serie de avantaje şi oferă multiple posibilităţi de a fi folosită cu succes în diferite cercetări asupra tăciunelui zburător de la orz.

În primul rînd, este superioară tuturor metodelor care au ca principiu de bază inocularea florilor, întrucît înlătură posibilitatea obţinerii unor rezultate eronate din cauza variaţiilor condiţiilor de mediu (în special umiditatea), a perioadei de înflorire (diferită de la soi la soi, de la un spic la altul, ca şi între spiculeţele aceluiaşi spic), a dozei de inoculum administrate (dificil de a fi prompt controlată în cazul unor lucrări de anvergură). În afară de aceste dezavantaje prezentate de metodele de inoculare pe cale florală, care sînt deosebit de evidente şi inadmisibil de neglijat în cazul lucrărilor pentru stabilirea rezistenţei soiurilor, prin noua metodă de inoculare a plăntuţelor se înlătură şi perioada lungă de timp de inoculare pînă la formarea teliosporilor (aproximativ 10 luni), ca şi munca laborioasă investită la inocularea plantelor în cîmp (etichetare, izolare, recoltare şi semănat în sezonul următor).

Metoda de inoculare a plăntuţelor, înlăturînd toate aceste dezavantaje, se dovedeşte a fi mai precisă, mult mai rapidă şi într-o anumită măsură mai puţin laborioasă decît metoda de inoculare pe cale florală. Folosind această metodă, reuşim ca un număr mare de plăntuţe să poată fi

---

[3] Din datele experimentale obţinute rezultă că la specia *U. nuda* pot exista două moduri de infecţie.

inoculate în aceeaşi etapă de creştere, cu aceeaşi suspensie de teliospori, în condiţii uniforme şi fără nici un pericol de contaminare. Teliosporii se formează după aproximativ 8–12 săptămîni. La aceasta se mai adaugă avantajul că se pot folosi cantităţi mici de inoculum, iar programul de testare a soiurilor şi liniilor noi de orz pentru rezistenţă la tăciune este redus la o singură generaţie de plante.

Metoda de inoculare a plăntuţelor se dovedeşte a fi deosebit de promiţătoare în cercetările cu privire la tăciunele zburător al orzului, întrucît permite folosirea ei în abordarea şi rezolvarea a numeroase probleme. Prin aplicarea acestei metode este posibilă disocierea efectului tratamentului de combatere a tăciunelui zburător, aplicat, pe de o parte, seminţelor şi, pe de altă parte, parazitului. Metoda oferă astfel posibilitatea de a constata modificările interne produse prin aplicarea tratamentului la seminţele sănătoase şi care antrenează inhibarea totală sau parţială a parazitului introdus prin inoculare artificială. În acelaşi timp se poate face şi verificarea capacităţii infectante a teliosporilor speciei *U. nuda* supuşi la diferite tratamente, obţinîndu-se informaţii asupra eficacităţii acestora.

Folosirea metodei de inoculare a plăntuţelor pare a fi deosebit de potrivită şi pentru studiul raselor fiziologice ale ciupercii *U. nuda*, permiţînd în acelaşi timp şi selecţionarea — în cazul cînd există — a formelor cu potenţial de infecţie diferit (pe cale embrionară şi pe cale florală). Totodată, multitudinea datelor obţinute prin aplicarea acestei metode va contribui la clarificarea semnificaţiei modalităţilor de rezistenţă faţă de tăciunele zburător menţionate de A. J. P. Oort (4).

Un dezavantaj al acestei metode în cadrul unui program de lucru pe scară largă ar fi numai munca laborioasă depusă pentru decapitarea individuală a coleoptilelor şi repicarea manuală cu deosebită grijă a plăntuţelor. Din acest punct de vedere, metoda s-ar părea că este potrivită numai pentru lucrări în seră, deoarece, înlăturînd multe din variabilele inerente în alte metode, se dovedeşte totuşi mai rapidă. Menţionăm că în prezent sîntem în posesia unor numeroase variante de îmbunătăţiri ce se pot aduce în legătură cu acest dezavantaj şi care eventual ar permite ca metoda să fie adaptată pentru utilizarea ei în cîmp.

Introducerea acestei tehnici noi şi convenabile din multe puncte de vedere în lucrările de testare a rezistenţei faţă de ciuperca *U. nuda*, necesită totuşi unele experimentări prealabile în vederea obţinerii de date comparative cu privire la procentele de infecţie obţinute prin inocularea florilor şi plăntuţelor atît de la soiurile sensibile, cît şi de la cele rezistente.

BIBLIOGRAFIE

1. BECERESCU D., *Cercetări asupra răspîndirii, biologiei şi combaterii speciilor de Ustilago care produc tăciunii la orz în R.P.R.*, Bucureşti, 1964.
2. — Rev. roum. Biol., Série de Botanique, 1967, **12**, *6*, 391–396.
3. KAVANAGH T., Irish J. Agric. Res., 1964, **3**, *2*, 133–139.
4. OORT A. J. P., Tijdschrift over Plantenziekten, 1947, **53**, *2*, 25–43.

5. ROWELL J. B. a. DEVAY J. E., Phytopathology, 1953, **43**, *12*, 654–658.
6. SĂVULESCU TR., *Ustilaginalele din R.P.R.*, Edit. Acad. R.P.R., Bucureşti, 1957, **1–2**.
7. TAPKE V. F., Phytopathology, 1955, **45**, *2*, 73–78.
8. VANDERWALLE R., Bull. Acad. Belg. Cl. Sci., seria a 5-a, 1935, **21**, *7*, 759–765.
9. VANDERWALLE R. et SOMMEREYNS G., Parasitica, 1965, **21**, *1*, 9–15.
10. — Parasitica, 1967, **23**, *2*, 66–78.

Institutul de biologie „Traian Săvulescu”,
Sectorul de micologie.

Primit în redacţie la 16 mai 1968.

REGENERAREA MICOBACTERIILOR DIN FORMELE FILTRANTE

DE

ALEXANDRINA GAIGINSCHI, SOFIA TIMOŞCA, NATALIA STAVRI, VIORICA PETREANU şi CONSTANŢA BURCOVEANU

576.852.2 : 576.8.094.29

The authors experimented on a nonpathogenic *Mycobacterium tuberculosis* of human type, which they cultivated on trichloriodopyridine media. Under these conditions, three different development aspects of mycobacteria are obtained: globulous forms obtained by filtration of the „L" — shaped cultures; through splitting these forms liberate alcohol-acid-resistant bacilli; cyanophilous hyphae which lead through fragmentation to mycobacteria-like bacilli or unequallysized cocci; through passages on laboratory animals, the latter forms could regenerate alcohol-acid-resistant bacilli.

Din cercetările efectuate asupra biologiei bacilului tuberculozei reiese că, în afară de multiplicarea prin diviziune directă, germenele comportă şi alte modalităţi de înmulţire. În acest sens cităm lucrările lui I. Straus (12) şi H. Much (10) asupra formei granulare a bacilului Koch, ale lui A. Vaudremer (13), A. Fontès (6), A. Calmette, şi J. Valtis (2) şi P. Hauduroy (7), care arată posibilitatea acestuia de a trece prin filtrele bacteriene şi a se regenera din formele filtrabile, precum şi lucrările lui M. C. Kahn (8), care pune în evidenţă dezvoltarea bacililor din particule foarte fine. H. Molgaard (9) descrie prezenţa de coci în culturile bacilului Koch, iar B. Fejgin (5) în culturile dezvoltate din filtratul produselor tuberculoase; aceste date au fost confirmate recent de A. Csillag (3), care pune în evidenţă coci în culturile unor micobacterii modificate.

În cercetările efectuate asupra formelor „L" la micobacterii am obţinut unele aspecte similare, precum şi regenerarea germenilor din formele filtrabile, date pe care le prezentăm în lucrarea de faţă.

MATERIAL ŞI METODĂ

Experimentările s-au efectuat cu tulpina P, variantă nepatogenă, obţinută dintr-o cultură de bacil tuberculos de tip uman sub acţiunea tricloriodpiridinei. Folosind în continuare acelaşi factor mutagen în concentraţie de 0,0333 g %, tulpina s-a modificat, trecînd prin faza „L".

Pentru a verifica filtrabilitatea acestei micobacterii P modificate, suspensia unei culturi de 5 zile de pe mediul Sauton gelozat (15‰) cu tricloriodpiridină (cînd modificările morfologice erau maxime) a fost filtrată prin filtrul Seitz EK_2, utilizîndu-se ca martor tulpina *Serratia marcescens*. Filtratul obținut a fost însămînțat în mediul Sauton, Sauton-gelozat și Löwenstein-Jensen fără tricloriodpiridină. Ca martor a fost însămînțat, în aceleași condiții, filtratul tulpinii P de origine.

Pentru studiul patogenității, filtratul tulpinii P în faza „L" a fost inoculat la 10 cobai pe cale intraperitoneală în volum de 1 ml și 10 șoareci intravenos în doză de 0,5 ml. Ca martor s-a folosit un lot de 6 cobai și 10 șoareci, inoculați în aceleași condiții cu tulpina P de origine. Animalele au fost urmărite 45 de zile.

REZULTATE

Filtratul tulpinii P în faza „L", însămînțat pe mediul Sauton, după 5–6 zile de menținere la 37°C, a determinat o ușoară tulburare a mediului și formarea unui sediment fin.

Examenul microscopic al acestei culturi a pus în evidență formațiuni sferice, de dimensiuni inegale (2–10 μ), acido-alcoolo-rezistente (a.a.r.) la limită, cu centrul mai intens colorat. În următoarele 2–3 zile, în interiorul acestor formațiuni globuloase au apărut granulații cianofile și bacili a.a.r., majoritatea fiind dispuși paralel. Unele formațiuni globuloase eclatau, punînd bacilii în libertate, iar altele se lizau, lăsînd o urmă slab conturată (fig. 1, 2 și 3). Într-un stadiu mai avansat, bacilii rezultați din eclatarea globilor s-au multiplicat, dispunîndu-se în corzi (cultura a fost urmărită timp de 16 zile).

Pe mediul Sauton-gelozat, cultura s-a dezvoltat sub formă de filamente cianofile, cu aspect de hife și rare forme globuloase a.a.r. După 8 zile de menținere la termostat, formațiunile filamentoase s-au fragmentat, transformîndu-se în bacili a.a.r. (fig. 4 și 5).

Pe mediul Löwenstein-Jensen, cultura s-a dezvoltat sub formă de bacili a.a.r.

În unele tuburi cu mediul Sauton, în care s-a însămînțat filtratul, după 10 zile de incubare a apărut o tulburare intensă a mediului, iar la examenul microscopic s-au pus în evidență formațiuni rotunde, cianofile, de dimensiuni mici și inegale (sub 1μ diametru), dispuse izolat, în perechi, tetrade sau mici grămezi, remarcîndu-se uneori o diviziune binară (fig. 6, 7 și 8). Această dispoziție este mai evidentă la microscopia electronică, constatîndu-se că elementele sferice au periferia difuză, ceea ce lasă să se presupună lipsa peretelui celular (fig. 9).

În următoarele 2–3 zile, cocii au crescut în dimensiuni, unii dintre ei luînd aspect globulos cu centrul mai intens colorat.

În subculturi pe mediul Sauton, Sauton-gelozat și Löwenstein-Jensen, cultura s-a dezvoltat în 5–6 zile sub formă de colonii mari, opace, lucioase, bombate, pigmentate în galben, pe suprafața cărora au apărut colonii secundare. Cultura a prezentat același aspect pe mediile simple pe care însă s-a dezvoltat lent în 8–10 zile.

Însămînțările efectuate în aceleași condiții din filtratul tulpinii nemodificate au rămas sterile.

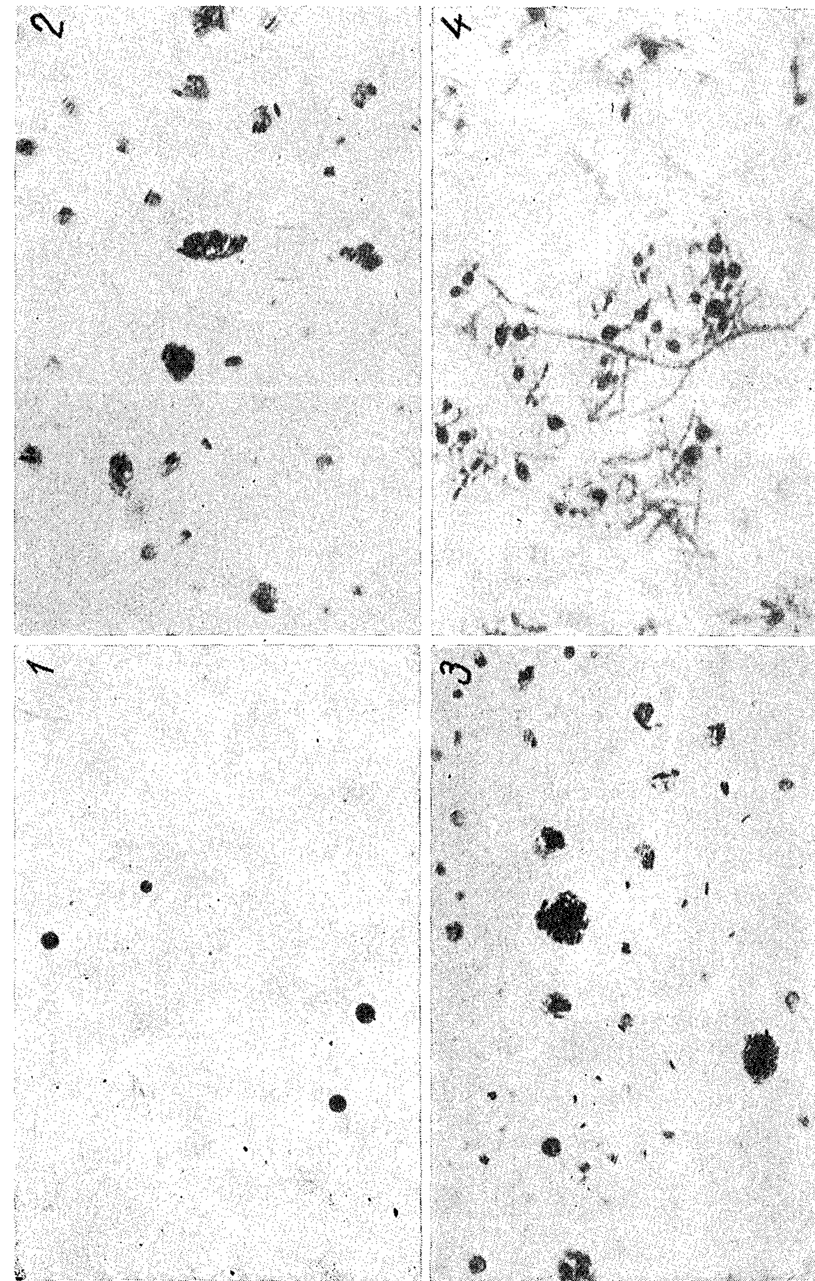


Fig. 1. — Cultura de 5–6 zile pe mediul Sauton, a filtrantului tulpinii P: forme globuloase. Fig. 2. — Apariția bacililor a. a. r. în interiorul globilor. Fig. 3. — Eclatarea globilor, punerea în libertate a bacililor a. a. r.. Fig. 4. — Cultură de 8 zile pe mediul Sauton-gelozat a filtratului tulpinii P: formațiuni globuloase și hife cianofile.

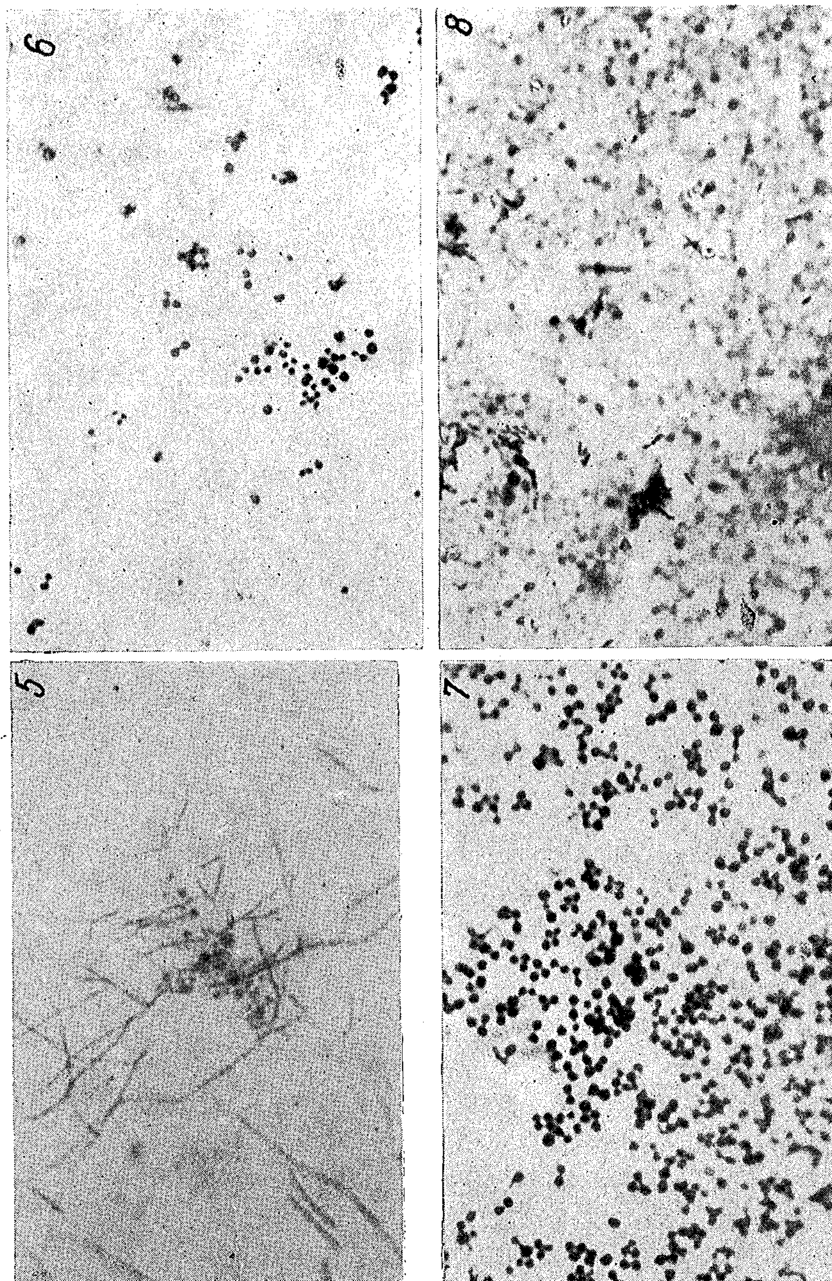


Fig. 5. — Fragmentarea hifelor. Fig. 6. — Aspect particular în mediul Sauton, după 10 zile de menţinere la termostat: coci cianofili, de dimensiuni inegale, dispuşi în grămezi sau tetrade. Fig. 7. — Acelaşi aspect, după 2—3 zile. Fig. 8. — Apariţia de bacili a. a. r.

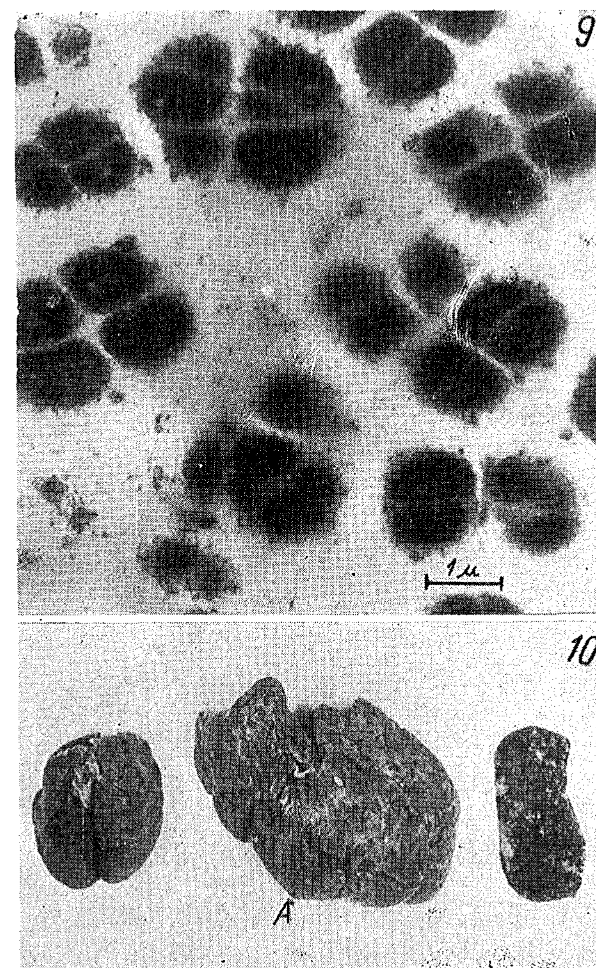


Fig. 9. — Examenul electronooptic al cocilor, care par a fi lipsiţi de perete celular. Fig. 10. — Leziuni de tuberculoză generalizată, obţinute la cobai prin treceri repetate ale culturii sub formă de coci.

Filtratul variantei P s-a demonstrat a fi lipsit de patogenitate pentru cobai, dar a determinat leziuni nodulare viscerale la 3 şoareci din cei 10 inoculaţi.

În continuarea experimentărilor, cultura obţinută din filtrat, care microscopic avea aspectul unor coci polimorfi, a determinat la cobaii inoculaţi cu doza de 0,01 mg intraperitoneal după 45 de zile hipertrofie hepatosplenică cu prezenţa de numeroşi noduli cazeoşi. Frotiurile efectuate din organe au pus în evidenţă numeroşi bacili a.a.r., iar însămînţările pe mediul Löwenstein-Jensen au determinat apariţia unei culturi „R" de bacili a.a.r. Două pasaje ulterioare efectuate din organele acestor cobai au determinat leziuni de tuberculoză generalizată, (fig. 10).

Animalele inoculate cu filtratul tulpinii P nemodificate nu au prezentat leziuni.

DISCUŢII

După cum se constată din literatura de specialitate, formele filtrabile ale micobacteriilor au fost puse în evidenţă în culturile de bacil Koch, precum şi în diverse produse patologice provenite de la bolnavi tuberculoşi (spută, lichid pleural, urină).

Existenţa şi interpretarea lor au format obiectul unor numeroase discuţii; s-a susţinut chiar ipoteza unui ciclu de dezvoltare a micobacteriilor cu trecerea prin forme atipice, precum şi analogia formelor filtrabile cu formele „L".

Numeroşi cercetători, ca A. F o n t è s (6) în 1931, M e l l o n (citat după (3)) în 1933, J. W e i s s f e i l e r (14) în 1935, care au întreprins studii pentru a defini rolul granulaţiilor în biologia bacilului Koch, au ajuns la concluzia că forma granulară poate regenera bacilul.

În acelaşi sens, F. B e z a n ç o n şi P. H a u d u r o y (1), J. D u r a n d (4), A. C a l m e t t e şi J. V a l t i s (2) demonstrează, prin experimentări efectuate pe animale, că formele filtrabile sînt virulente şi tuberculigene.

L. N è g r e şi J. B r e t e y (11) consideră că elementele filtrabile ale bacilului Koch ar fi reprezentate de bacili tineri, mai puţin evoluaţi (de aproximativ 8 zile), care ar determina la cobai o tuberculoză ganglionară de tip Calmette-Valtis.

Apariţia cocilor în culturi de micobacterii a fost observată de o serie de autori şi a fost interpretată fie ca un stadiu în evoluţia bacilului, fie drept mutante; unii autori, printre care A. C s i l l a g (3), consideră că originea cocilor ar fi în granulaţiile descrise de H. M u c h, care s-ar elibera din interiorul bacililor.

Pe baza studiilor efectuate la microscopul electronic, X a l a b a r d e r (citat după (3)) interpretează elementele cocoide ca fiind conidii care se detaşează din interiorul bacteriei.

Din cercetările noastre reiese posibilitatea regenerării micobacteriilor din forme filtrabile. Considerăm că dezvoltarea bacililor a.a.r. din coci după inocularea la animale constituie un argument în plus asupra posibilităţii regenerării micobacteriilor din formele filtrabile.

Este interesant faptul că varianta P, micobacterie nepatogenă (dar provenită dintr-o tulpină virulentă), după regenerarea din formele filtrabile, și-a recăpătat virulența pentru animalele de laborator.

CONCLUZII

1. Din filtratul unei variante P, micobacterie nepatogenă, în faza „L", s-a obținut regenerarea bacililor a.a.r. pe medii de cultură și prin inocularea la cobai și șoareci.

2. Culturile obținute din filtrat în aceste condiții au prezentat trei aspecte: *1*) globi în interiorul cărora s-au format bacii a.a.r., care s-au eliberat prin eclatarea acestora; *2*) hife care s-au fragmentat în bacili a.a.r.; *3*) coci dispuși izolat, în perechi, tetrade sau grămezi, care după inoculare la cobai și șoareci au regenerat cultura de bacili a.a.r.

3. Din filtratul variantei P nemodificate nu s-au obținut culturi.

4. Varianta P în faza „L" și-a recăpătat patogenitatea, fapt demonstrat prin aceea că a determinat leziuni tuberculoase la animalele inoculate.

BIBLIOGRAFIE

1. BEZANÇON F. et HAUDUROY P., Rev. Tuberc., Paris, 1924, **V**, *2*, 215–218.
2. CALMETTE A. et VALTIS J., Ann. Inst. Pasteur, 1930, **44**, 629–658.
3. CSILLAG A., J. gen. Microbiol., 1964, **34**, 341–352.
4. DURAND J., C. R. Soc. Biol., 1924, **91**, 11–12.
5. FEJGIN B., C. R. Soc. Biol., 1931, **106**, 161–162; 163–165.
6. FONTÈS A., *L'ultravirus tuberculeux*, Masson, Paris, 1932.
7. HAUDUROY P., Ann. Inst. Pasteur, 1960, **99**, 15.
8. KAHN M. C., Amer. Rev. Tuberc., 1929, **20**, 151–199.
9. MOLGAARD H., Beitr. Klin. Tuberk., 1931, **77**, 82–120.
10. MUCH H., Beitr. Klin. Tuberk., 1907, *8*, 357–368.
11. NÈGRE L. et BRETEY J., Ann. Inst. Pasteur, 1952, **82**, 132–144.
12. STRAUS I., *La tuberculose et son bacille*, Ruef., Paris, 1895, 171.
13. VAUDREMER A., Beitr. Klin. Tuberk., 1931, **77**, 17–36.
14. WEISSFEILER J., Beitr. Klin. Tuberk., 1935, **86**, 151–159.

Academia Republicii Socialiste România, Filiala Iași,
Secția de biomorfologie și I.M.F. Iași,
Catedra de microbiologie.

Primit în redacție la 2 februarie 1968.

DIVIZIUNEA REDUCȚIONALĂ ȘI FERTILITATEA UNOR LINII AUTOTETRAPLOIDE DE *CITRULLUS VULGARIS*

DE

P. RAICU și I. ANGHEL

576.354.465 : 582.982

The authors studied the fertility of three Romanian autotetraploid strains of watermelon: Arad, Brăila and Graybelle and they found that it generally does not exceed 50% of the corresponding 2n strain fertility. In the C_2, C_3 and C_4 generations after colchicinization, a restoration process of the 4n plant fertility is noticed, although the level of diploid ones is not reached.

The study of meiosis in autotetraploid plants points out that the high level of chromosome homology results in many abnormalities appearing in different stages of reductional division. The number of abnormal divisions show a decreasing tendency in the older 4n generations.

Studiul diviziunii reducționale efectuat la diferite linii autotetraploide artificiale de la diverse specii de plante a demonstrat că meioza prezintă anumite caracteristici datorită gradului mai ridicat de omologie a cromozomilor. În mod constant se observă o frecvență mărită a unor asociații cromozomiale de tipul tetra-, tri- și univalenților, fapt care determină o fertilitate relativ redusă autotetraploizilor artificiali, mai ales în primele generații după colchicinizare. În ceea ce privește sterilitatea completă a triploizilor, ea poate fi explicată în mod similar prin apariția unor asocieri cromozomiale de tipul tri-, bi- și univalenților, fapt care determină o disjuncție cu totul neregulată a cromozomilor și, ca atare, nefuncționalitatea gameților.

La *Citrullus vulgaris*, deși s-au obținut linii autotetraploide relativ de multă vreme, totuși nu există decît puține cercetări privind diviziunea reducțională și fertilitatea plantelor, mai ales din cauza dificultăților de ordin tehnic pe care le prezintă studiile citologice la această plantă. Printre cei care au efectuat unele cercetări în această direcție pot fi citați: H. Kihara (2), M. Shimotsuma (5), (6), M. Tanaka și T. Mukai (9), E. C. Stevenson (8).

Pe această bază am considerat utilă efectuarea unor cercetări privind fertilitatea autotetraploizilor, corelată cu diviziunea reducţională, precum şi germinarea polenului n şi $2n$.

MATERIAL ŞI METODE

Ca material pentru acest studiu am folosit liniile autotetraploide : *Arad*, *Brăila* şi *Timbureşti*, obţinute în laboratorul nostru prin tratamente cu colchicină şi aflate în diferite generaţii de la colchicinizare. De asemenea s-au folosit două linii $4n$, obţinute de noi din soiuri străine : linia japoneză *Graybelle* şi cea americană *Kleckley sweet*. Pentru studiul citologic s-au folosit muguri florali foarte tineri, fixaţi în alcool etilic-acid acetic glacial (3 : 1). Colorarea materialului s-a efectuat prin metodele Feulgen şi carmin-acetică. Preparatele de tip „squash" au fost montate în balsam de Canada, după care s-au efectuat microfotografii.

Fertilitatea polenului s-a determinat prin colorarea sa în soluţie de carmin-acetic 2%, iar germinarea polenului s-a făcut pe mediu de zaharoză (15%) şi agar-agar.

Aprecierea fertilităţii seminţelor s-a efectuat prin secţionarea lor sau prin introducerea lor într-un vas cu apă, fiind considerate ca normale cele care se scufundau complet. Plutirea lor sau scufundarea parţială constituie un indiciu al absenţei fertilităţii germinative.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Studiul comparativ al numărului de seminţe în fructe, efectuat la formele $2n$ şi la cele $4n$ corespunzătoare (tabelul nr. 1), a arătat foarte concludent că autotetraploizii prezintă o fertilitate mult mai redusă decît

Tabelul nr. 1

Numărul de seminţe fertile în fruct în C_1, C_2, C_3, C_4 (1963–1966)

Anul	Arad		Brăila		Graybelle	
	$2n$	$4n$	$2n$	$4n$	$2n$	$4n$
1963	1031,0 000	135,8	942,0 000	125,5	—	
1964	939,3 000	190,9	844,0 000	169,4	619,6 000	113,5
1965	691,8 000	231,8	492,2 000	166,5	252,7 000	103,8
1966	556,8 000	230,4	534,0 000	169,9	468,3 000	109,5

a dipoloizilor (sub 50%). La plantele $4n$ Arad şi Brăila s-a observat un fenomen interesant, de restabilire parţială a fertilităţii la generaţiile C_2, C_3 şi C_4 după colchicinizare, această capacitate fiind mai redusă la soiul japonez Graybelle.

Rezultate mai bune în ceea ce priveşte fertilitatea plantelor s-au obţinut prin polenizarea plantelor $4n$ cu polen de la cele $2n$ (tabelul nr. 2). Aproape la toate combinaţiile hibride studiate de noi s-a remarcat un număr sporit de seminţe pe fruct, existînd în mod evident unele diferenţe în funcţie de polenizator.

Tabelul nr. 2

Numărul de seminţe în fructele hibride între $4n$ ♀ × $2n$ ♂ (1966)

Hibrizii	Seminţe fertile în fruct		Seminţe sterile în fruct
	media	limite de variaţie	
Brăila ♀ × Arad ♂	288,0	216–405	216,0
Brăila ♀ × Kleckley sweet ♂	221,1	216–226	195,9
Brăila ♀ × Graybelle ♂	208,5	141–298	143,5
Brăila ♀ × Brăila ♂	227,0	96–252	198,4
Arad ♀ × Brăila ♂	194,0	78–297	283,6
Arad ♀ × Kleckley sweet ♂	214,6	143–286	178,0
Arad ♀ × Graybelle ♂	136,8	100–186	102,9
Graybelle ♀ × Graybelle ♂	170,3	116–194	106,1

Pe baza acestor observaţii am considerat necesară efectuarea unor cercetări privind germinarea polenului şi lungimea tuburilor polinice la formele $2n$ şi $4n$ (fig. 1 şi 2). Atît la soiul Arad, cît şi la Graybelle se observă o viteză mărită de germinaţie a polenului haploid, tuburile polinice

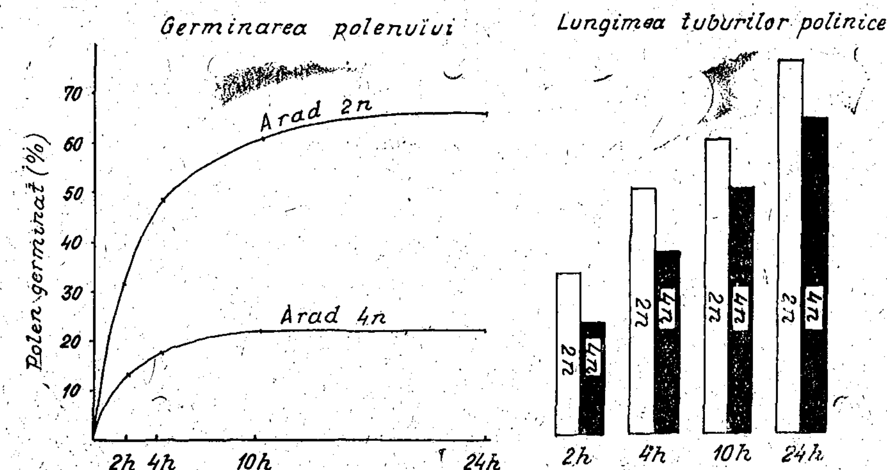


Fig. 1. – Dinamica germinării polenului şi lungimea tuburilor polinice la soiul Arad $2n$ şi $4n$.

fiind de asemenea mai lungi la plantele diploide. Se remarcă totodată o capacitate germinativă mai mare a polenului la plantele $2n$ comparativ cu cele $4n$. În ceea ce priveşte fertilitatea polenului, determinată prin metoda carmin-acetică, s-a constatat că nu sînt deosebiri semnificative între plantele $2n$ şi $4n$.

Studiul diviziunii reducționale (pl. I și II) la plantele autotetraploide în diferite generații după colchicinizare a arătat că mărirea gradului de omologie a cromozomilor determină apariția a numeroase anomalii. În metafaza I (tabelul nr. 3) se observă că numeroși cromozomi univalenți se împrăștie în afara plăcii ecuatoriale. În C_3 și C_4, frecvența celulelor care prezintă univalenți este cuprinsă între 19,7 și 21,8% la cele trei linii studiate, în timp ce în C_1 frecvența metafazelor de acest tip este mai mare

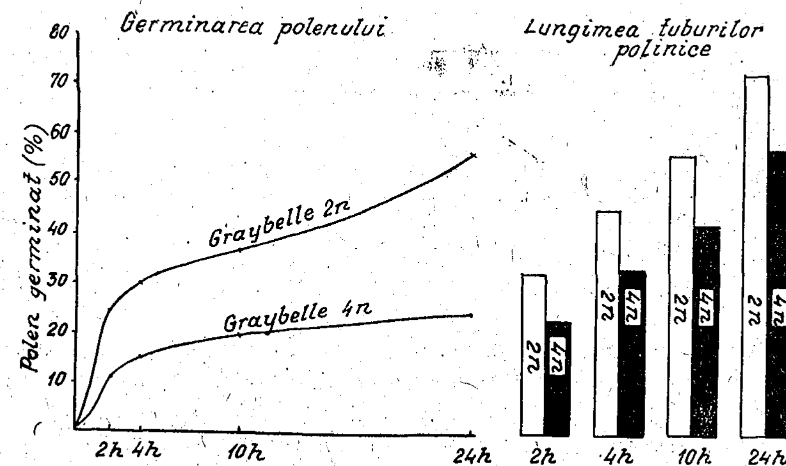


Fig. 2. — Dinamica germinării polenului și lungimea tuburilor polinice la soiul Graybelle 2n și 4n.

Tabelul nr. 3

Studiul metafazei I la plantele 4n (1966)

Liniile 4n		Nr. celule analizate	Metafaze cu univalenți		Distribuția univalenților în celule (%)				Univalenți per celulă
			nr.	%	1	2	3	>3	
Arad	C_4	520	114	21,8	14,4	5,0	1,8	0,6	0,32
Brăila	C_4	560	111	19,8	14,6	2,8	1,9	0,5	0,26
Graybelle	C_3	510	100	19,7	13,9	3,7	1,6	0,5	0,28
Kleckley sweet	C_1	500	131	26,2	19,0	4,1	2,2	0,9	0,38
Tîmburești	C_1	480	139	29,0	17,2	7,5	2,7	1,6	0,46

(26,2—29,0%). Se remarcă, de asemenea, că majoritatea celulelor din această categorie prezintă numai un univalent și în puține celule există 2 — 3 univalenți sau mai mulți. Din cauza dificultăților pe care le prezintă studiul metafazei I, în special datorită cromozomilor extrem de mici și greu de dispersat, nu am reușit să determinăm statistic numărul altor formațiuni (bivalenți, trivalenți, tetravalenți).

Frecvența telofazelor I aberante, cu cromozomi retardatari și punți cromatice (tabelul nr. 4), este în mod evident mai mare în C_1 și mai redusă în C_3 și C_4 la toate liniile studiate. Numărul celulelor cu 1—2 retardatari

Tabelul nr. 4

Studiul telofazei I la plantele 4n (1966)

Liniile 4n		Nr. celule analizate	Telofaze aberante		Distribuția telofazelor aberante (%)				Retardatari per celulă
					retardatari			punți	
			nr.	%	1	2	>2		
Arad	C_4	526	105	20,0	12,3	4,0	2,0	0,9	0,29
Brăila	C_4	512	95	18,6	13,5	1,7	2,8	0,6	0,24
Graybelle	C_3	480	99	21,6	12,2	6,7	2,0	0,7	0,32
Kleckley sweet	C_1	436	130	29,8	14,3	8,0	7,0	0,5	0,40
Tîmburești	C_1	420	118	28,1	17,1	8,1	2,5	0,4	0,41

depășește considerabil pe cel al celulelor care au mai mulți cromozomi retardatari. Aceasta confirmă rezultatele obținute în metafază, univalenții devenind în bună măsură cromozomi retardatari.

În sfîrșit, studiul diadelor și tetradelor (tabelul nr. 5) indică existența unui procent destul de ridicat de celule cu micronuclei, dar care este mai redus la tetrade. Se pare că în cursul fazelor succesive ale diviziunii celulare se petrece un proces de autoreglaj, prin care sînt eliminate aberațiile respective. Pe lîngă tetrade normale, apar cu o frecvență destul de mare triade (8,3—17,4%) și pentade (2,9—5,1%). Existența acestor ultime formațiuni se poate explica prin absența unei sincronizări a diviziunilor reducționale, care duc la apariția gameților. În sfîrșit, trebuie semnalat faptul că la plantele 4n se observă o capacitate mai redusă de individualizare a grăunciorilor de polen, care rămîn uneori grupați cîte 4.

Rezultatele noastre privind fertilitatea plantelor din încrucișarea 4n ×4n și 4n ×2n sînt concordante cu cele ale lui M. S h i m o t s u m a (6), (7), numai că în cazul nostru numărul de semințe per fruct a fost mai mare la ambele tipuri de hibrizi. De pildă, dacă în studiile lui M. S h i m o t s u m a în hibridarea 4n ×4n numărul mediu de semințe în fruct a fost de 49, iar în încrucișarea 4n ×2n a fost de 59, în experiențele noastre (4) numărul de semințe la cele două linii 4n în C_4 studiate a fost de 169,9

Tabelul nr. 5

Studiul diadelor și tetradelor la plantele 4n (1966)

Liniile 4n		Diade			Tetrade				
		nr. celule analizate	diade cu micronuclei %	micronuclei per celulă	nr. celule analizate	tetrade cu micronuclei %	micronuclei per celulă	triade %	pentade %
Aead	C_4	495	23,2	0,32	480	15,3	0,30	8,5	4,8
Brăila	C_4	510	22,3	0,30	600	13,6	0,26	8,5	3,0
Graybelle	C_3	480	19,2	0,31	560	16,1	0,27	8,3	2,9
Kleckley sweet	C_1	380	30,1	0,45	300	19,6	0,29	10,0	3,6
Tîmburești	C_1	360	26,4	0,36	534	15,1	0,29	17,4	5,1

(Brăila) şi de 230,4 (Arad) per fruct. În mod similar la toţi cei opt hibrizi $3n$ ($4n$ ♀ × $2n$♂), numărul mediu de seminţe a fost relativ mare, variind între 136,8 şi 288,0 per fruct.

În ceea ce priveşte corelaţia dintre ameliorarea fertilităţii plantelor în generaţiile mai avansate după colchicinizare şi reducerea numărului de aberaţii din cursul diviziunii reducţionale, studiile noastre sînt concordante cu ale lui M. Shimotsuma (5), care susţine de asemenea posibilitatea ameliorării fertilităţii autotetraploizilor prin selecţie.

H. Kihara (2), primul care a obţinut autotetraploizi la pepenele verde, arată că plantele $4n$ au o sterilitate destul de accentuată, numărul de seminţe per fruct variind ca regulă între 50 şi 100. Este probabil ca în experienţele noastre fertilitatea mai bună a liniilor autotetraploide să se datoreze, pe de o parte, condiţiilor climatice de asemenea mai bune, iar pe de altă parte soiurile folosite ca material iniţial, cu fructe mai mari şi seminţe mai multe decît în cazul soiurilor utilizate de cercetătorii japonezi.

Se poate conchide că, în condiţiile noastre climatice şi prin folosirea pentru poliploidizare a unor soiuri cum sînt Brăila şi Arad, care prezintă fructe mari şi seminţe numeroase, formele autotetraploide produse au o fertilitate relativ bună, fapt care măreşte valoarea lor economică.

CONCLUZII

1. Plantele autotetraploide din liniile Arad, Brăila şi Graybelle au o fertilitate relativ redusă comparativ cu formele $2n$ corespunzătoare, numărul de seminţe în fruct nedepăşind 50% din cel al diploizilor. În generaţiile mai avansate după colchicinizare, fertilitatea plantelor $4n$ are tendinţa de a se ameliora.

2. Prin încrucişarea plantelor $4n$ (genitor matern) cu cele $2n$ (genitor patern), numărul de seminţe în fruct este considerabil mai mare decît în încrucişarea $4n \times 4n$. Aceasta se poate explica printr-o viteză de germinaţie mai mare a polenului haploid şi prin creşterea mai rapidă a tuburilor polinice respective comparativ cu polenul diploid.

3. Studiul diviziunii reducţionale la plantele $4n$ a arătat că, din cauza unui grad mai mare de omologie a cromozomilor, apar în cursul diferitelor faze o seamă de anomalii (univalenţi, trivalenţi, tetravalenţi, retardatari, diviziuni asincrone, micronuclei, triade, pentade). Numărul anomaliilor are tendinţa de a se reduce la formele autotetraploide mai vechi. Aceasta arată că există o corelaţie între modul de desfăşurare a diviziunii reducţionale şi fertilitatea plantelor.

4. Analiza comparativă a rezultatelor noastre cu cele ale cercetătorilor japonezi, care au lucrat mai mult în acest domeniu, arată că, din cauza condiţiilor climatice specifice ţării noastre şi datorită folosirii ca material iniţial a unor soiuri diploide cu fructe mari şi seminţe multe, liniile autotetraploide româneşti depăşesc pe cele străine în ceea ce priveşte fertilitatea. Ca urmare, se poate conchide că sterilitatea relativă a plantelor $4n$ nu este un factor limitativ în extinderea formelor poliploide în ţara noastră.

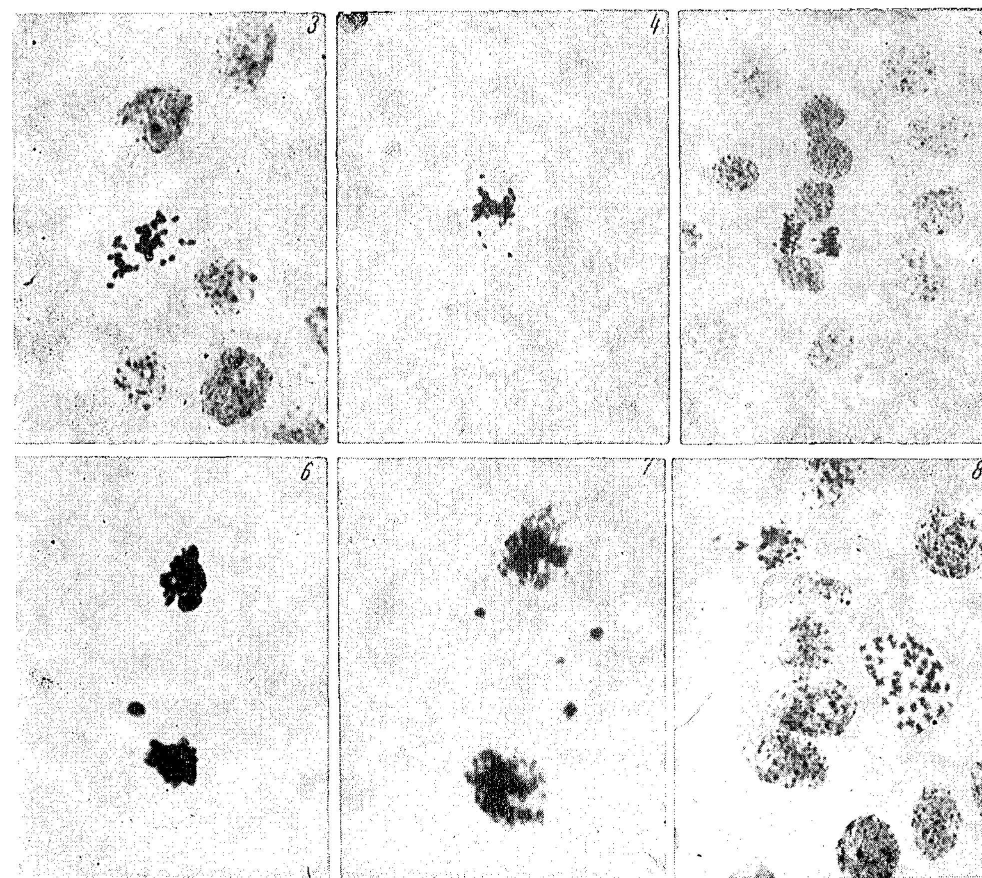


Fig. 3–8. – Diferite faze ale diviziunii reducţionale la *Citrullus vulgaris* $4n$. 3 şi 4, Metafaza I; 5, anafaza I cu retardatari; 6 şi 7, telofaza I cu retardatari; 8, metafaza II.

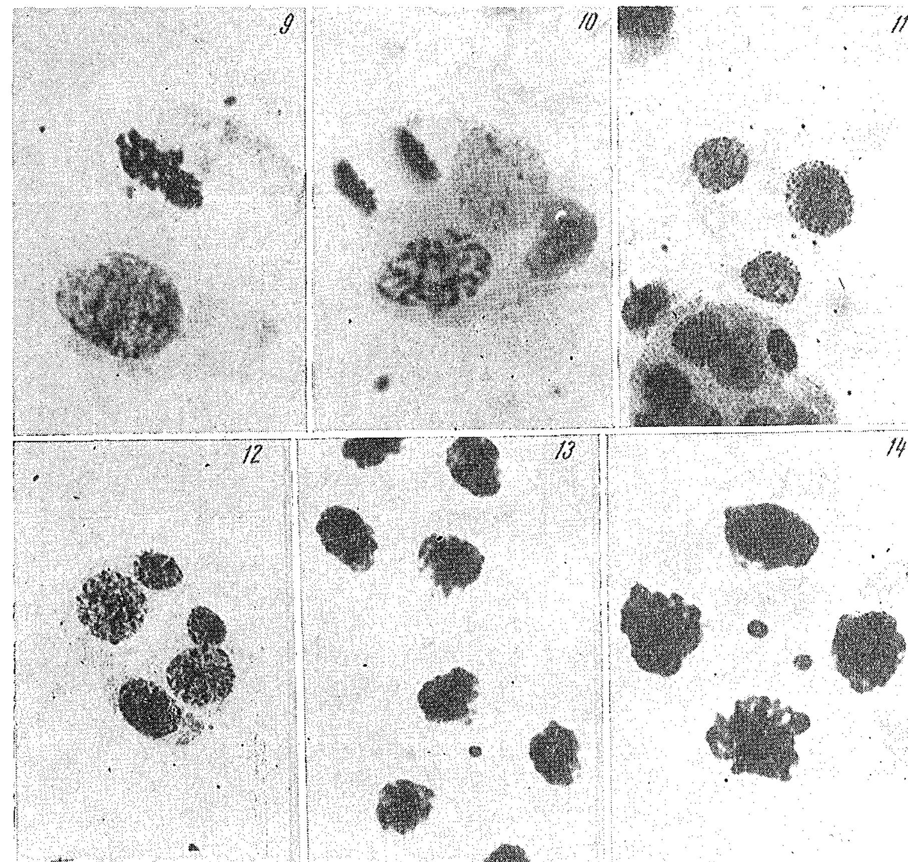


Fig. 9—14. — Diferite faze ale diviziunii reducţionale la *Citrullus vulgaris* 4n. 9, Diadă asincronă; 10, tetradă asincronă; 11, triadă; 12, pentadă; 13 şi 14, tetrade cu micronuclei.

BIBLIOGRAFIE

1. Anghel I., *Cercetări de genetică*, Edit. didactică, Bucureşti, 1968.
2. Kihara H., Science, 1951, **58**, 217—230.
3. Raicu P., *Metode noi în genetică*, Edit. didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1962.
4. Raicu P. şi Anghel I., Grădina, via şi livada, 1966, *10*, 24—31.
5. Shimotsuma M., Jap. J. Genet., 1961, **36**, 63—71.
6. — Jap. J. Breed., 1962, **12**, *32*, 55—61.
7. — Seikon Zihô, 1962, **13**.
8. Stevenson E. C., Amer. Veget. Grower, 1958, **6**, *11*.
9. Tanaka M. a. Mukai T., Seikon Zihô, 1955, **7**, 86—93.

Facultatea de biologie,
Laboratorul de genetică.

Primit în redacţie la 24 octombrie 1967.

ABSORBȚIA ROȘULUI NEUTRU DE CĂTRE PLANTULELE UNUI MUTANT SPELTOID DE GRÎU (*TRITICUM AESTIVUM* L. VAR. *LUTESCENS*)

DE

A. MÁRKI și DORINA CACHIȚA-COSMA

582.542.1 : 575.24 : 581.08

The authors studied by colorimetry the neutral red absorption capacity of the wheat seedlings, comparatively with the speltoid mutant belonging to the partial A type.

All the data concerning both the total and specific absorptions (tables 1, 2, 3, 4 and fig. 1) and the tests of varying weights and lenghts of the seedlings (tables 5 and 6) show that the mutant gene effect appears at the beginning of the germinative processes causing the slowering of growth of the absorption organs on the one hand, and a decrease of their absorption capacity, on the other hand.

Mutantul speltoid indus la *Triticum aestivum* L. prin mutația locusului Q a cromozomului 5 A (4) prezintă multiple schimbări morfofuncționale. Se presupune că o singură unitate de recombinare se poate manifesta prin numeroase efecte fenotipice, dacă locusul respectiv însumează mai mulți mutoni sau dacă acțiunea acestei gene începe într-o fază incipientă a ontogeniei plantei respective (pleiotropism adevărat) (1). Existînd în sortimentul nostru de mutanți mai multe linii homozigote speltoide, ne-am pus întrebarea dacă printr-o testare a capacității de absorbție a acestora se poate evidenția efectul pleiotropic al genei mutante la plantulele de numai cîteva zile.

MATERIAL ȘI METODĂ

Mutantul speltoid folosit în experiență a fost indus cu raze X la o varietate de grîu *lutescens*. Mutantul prezenta următoarele caractere și însușiri schimbate față de martor:

— înălțimea plantei : cu puțin mai scăzută ;
— capacitatea de înfrățire : scăzută ;

— tipul spicului : ascuțit, subțire ;
— lungimea rahisului : mai redusă ;
— fragilitatea rahisului : rezistent, dar spre vîrf din ce în ce mai subțire, fragil ;
— numărul spiculețelor : mai redus ;
— glume ; mai scurte, mai groase, mai netede, trunchiate, strînse de bob ;
— mărimea polenului : mai redusă ;
— maturitatea : întîrziată cu 5—7 zile ;
— frunze : cu suprafață mai redusă, de culoare verde pal.

Pentru a determina capacitatea de absorbție a plantulelor de la mutant și martor, s-au pus la germinat cariopse în prealabil îmbibate 24 de ore în apă. Germinarea s-a efectuat în vase Linhard, pe un strat de vată acoperit cu hîrtie de filtru și tifon, la temperatura de 21—24°C. Numărul indivizilor pe repetiții a fost de 25—30, iar numărul de repetiții a variat între 3 și 5. Datele obținute privind valorile absolute ale absorbției totale le-am prelucrat prin metoda analizei varianței (tabelul nr. 1). Analiza capacității de absorbție a organelor plantulelor s-a făcut conform metodei descrise în literatura de specialitate (6), (8), (9). S-a analizat colorantul vital (roșu neutru), în concentrație de 1/10 000, diluție efectuată în apă de robinet. Plantulele au fost scufundate în această soluție timp de o oră, după care s-au spălat la curent de apă și s-a trecut la extragerea colorantului din organe.

Absorbția am determinat-o la următoarele intervale de timp : 48, 72, 96, respectiv 144 de ore. Pentru fiecare lot experimental s-au executat cite trei citiri la electrofotocolorimetru dr. Lange (tip VII), utilizîndu-se un filtru albastru cu maximum de extincție pentru acest colorant.

În urma raportării datelor la volumul soluției extrase și la greutatea uscată a materialului vegetal s-au calculat *absorbția totală* (mg/h) și *absorbția specifică* (mg/g/h) a întregii plantule, precum și a fiecărui organ în parte, după formula :

$$\text{absorbția totală} = \frac{C \cdot V}{n \cdot 1\,000} \text{ mg/plantă/h}$$

$$\text{absorbția specifică} = \frac{C \cdot V}{g \cdot n \cdot 1\,000} \text{ mg/g/plantă/h}$$

unde :

C este concentrația citită pe curba-etalon a roșului neutru ;
V — volumul soluției de colorant extras de pe un organ ;
n — numărul de indivizi analizați ;
g — greutatea uscată a materialului vegetal.

Măsurătorile privitoare la creșterea perișorilor absorbanți s-au executat cu ajutorul microscopului Nfpk, la care s-a atașat un micrometru ocular. În tabelul nr. 1 am redat valoarea mediei ($\bar{X}$), a erorii mijlocii a mediei ($s_{\bar{x}}$), respectiv pragul de semnificație a testului „t" al absorbției totale, în raport cu 1 mg substanță uscată și la o oră de absorbție. Datele din tabelele nr. 2 și 3 reprezintă valorile relative ale absorbției față de întreaga plantulă (tabelul nr. 2), respectiv față de întregul sistem radicular propriu (tabelul nr. 3). În tabelul nr. 4 am redat absorbția totală a mutantului speltoid în raport cu absorbția martorului, iar în figura 1 am reprezentat variația ritmului absorbției totale în cursul germinației. Tabelul nr. 5 ilustrează valorile medii ($\bar{X}$) privind creșterea în lungime și greutate a plantulelor.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

MARTORUL

A. Absorbția totală

a. *Absorbția totală a întregii plantule* (reprezentînd însumarea capacității de absorbție parțială a organelor plantulei) crește liniar ascendent pe măsura dezvoltării acesteia, ritmul absorbției scăzînd brusc după 96 de ore, în special pe seama organelor nespecific absorbante (tabelul nr. 1).

b. Aceeași tendință se manifestă și în cazul *absorbției totale în sistemul radicular*, ritmul absorbției scăzînd mai puțin după 96 de ore. Raportînd aceste date la absorbția pe întreaga plantulă (tabelul nr. 2) constatăm un aport din ce în ce mai mare al acestui sistem pe măsura înaintării în vîrstă a plantulei. Dacă la începutul experimentării absorbția totală a rădăcinilor reprezenta doar jumătate din capacitatea de absorbție a plantulei, după 6 zile ajunge să fie de 82%.

c. Deși *absorbția totală a rădăcinii principale* este în ascensiune în primele 6 zile (tabelul nr. 1) cea relativă (tabelul nr. 2), nu prezintă o variație semnificativă pe măsura avansării în vîrstă, oscilînd între 25,2 și 28,5%.

Analizîndu-se absorbția rădăcinii principale în raport cu capacitatea de absorbție a sistemului radicular propriu (tabelul nr. 3), se constată o descreștere a acesteia pe măsura înaintării procesului de germinație și a dezvoltării rădăcinilor adventive. Tot un raport de invers proporționalitate există și în cazul analizei variației greutății uscate a rădăcinilor principale, respectiv adventive, în funcție de vîrstă (tabelul nr. 5). Față de absorbția specifică a rădăcinii principale la 144 de ore, în rădăcinile adventive pătrunde aprcape de 2 ori mai mult colorant vital (87%), iar greutatea acestora crește cu 72%. Există deci un paralelism între creșterea în greutate a organelor absorbtive și absorbția propriu-zisă.

d. *Absorbția totală a rădăcinilor adventive* se mărește, de la prima pînă la a 6-a zi, de 10 ori, iar ritmul zilnic al absorbției crește pînă la 96 de ore identic cu cel al rădăcinii principale, după care se înregistrează o scădere ușoară a lui (tabelul nr. 1).

Se constată deci că capacitatea de absorbție a rădăcinii principale este în continuă creștere pînă în ziua a 5-a a germinării, după care funcția absorbantă a acesteia scade, în timp ce capacitatea de absorbție a rădăcinilor adventive devine predominantă. Această constatare confirmă observațiile făcute și de alți cercetători la graminee (2), (8).

e. Însumînd *absorbția totală a organelor nespecifice*, constatăm că în primele trei zile de germinație aportul lor la absorbția pe întreaga plantulă este în jur de 40%, pentruca după 96 de ore să scadă la circa 18%. Aceasta se datorește aproape exclusiv activității de absorbție a cariopsei.

B. Absorbția specifică

Evaluînd absorbția specifică, constatăm că și în cazul grîului această metodă ne oferă posibilitatea de a delimita net organele cu funcție principală de absorbție (rădăcini) de cele cu funcție absorbtivă temporară și nespecifică. La 48 de ore de germinație (exprimată în absorbție totală),

Tabelul nr. 1

Absorbţia totală (mg/h)

ore după imbibiţie	nr. plantulelor	Martor: întreaga plantă $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Martor: sistemul radicular $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Martor: rădăcina principală $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Martor: rădăcina adventivă $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Martor: cariopsa $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Martor: coleoptilul $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Martor: frunza $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Mutant speltoid: întreaga plantă $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Mutant speltoid: sistemul radicular $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Mutant speltoid: rădăcina principală $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Mutant speltoid: rădăcina adventivă $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Mutant speltoid: cariopsa $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Mutant speltoid: coleoptilul $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	Mutant speltoid: frunza $\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$
48	30	29 ±1,1	15,4±0,4	7,3±0,3	8,1±0,5	12,8±0,7	0,8±0,1	—	15,5***±1,3	7,9***±0,4	4,2***±0,4	3,7***±0,5	6,8**±0,6	0,8 ±0,1	—
72	30	44 ±2,3	28,9±0,5	11,7±0,5	17,2±0,2	13,8±0,2	1,4±0,3	—	23,0***±1,5	15,0***±0,7	6,5***±0,6	8,5***±0,2	6,9**±0,8	1,1 ±0,3	—
96	25	107,4±3,1	85,3±0,4	33,8±0,4	51,5±0,6	20,2±1,3	1,9±0,4	—	62,0***±2,7	42,0***±0,4	18,8***±0,7	23,2***±0,5	16,8*±1,4	3,2 ±0,3	—
144	30	159,6±3,4	131,2±1,9	46,6±1,3	85,6±1,4	16,5±0,8	3,6±0,3	8,6±0,7	82,2***±2,4	51,8***±2,4	17,9***±0,9	33,9***±1,6	14,9 ±1,3	6,9* ±0,6	8,6±0,6

Notă: P = 0,001 se notează cu ***
P = 0,01 se notează cu **
P = 0,05 se notează cu *

sistemul radicular absoarbe 53,1%, iar restul organelor 46,9%, în timp ce, exprimînd în absorbţie specifică, sistemul radicular reprezintă 96,5%, iar organele neabsorbtive 3,5% (tabelul nr. 2).

Tabelul nr. 2

Absorbţia în valori relative (%) în raport cu absorbţia pe întreaga plantulă

ore după imbibiţie	felul absorbţiei	Martor: rădăcina principală	Martor: rădăcina adventivă	Martor: cariopsa	Martor: coleoptilul	Martor: frunza	Mutant speltoid: rădăcina principală	Mutant speltoid: rădăcina adventivă	Mutant speltoid: cariopsa	Mutant speltoid: coleoptilul	Mutant speltoid: frunza
48	totală	25,2	27,9	44,2	2,7	—	27,1	23,9	43,9	5,1	—
48	specifică	43,3	53,2	0,5	3,1	—	48,8	41,4	0,8	9	—
72	totală	26,5	39	31,3	3,2	—	28,2	37	30	4,8	—
72	specifică	42	54,4	1,2	2,4	—	44,3	50,1	0,7	4,9	—
96	totală	31,5	48,0	18,8	1,7	—	30,4	37,5	27	5,1	—
96	specifică	42,6	49	1,3	7,1	—	42,3	54,5	1,2	2	—
144	totală	28,5	53,5	10,3	2,3	5,4	21,8	41,3	18,1	8,4	1
144	specifică	29,7	64,4	2,3	1,9	1,7	39,5	50,7	2,2	5,8	1,8

Rădăcina principală împreună cu rădăcinile adventive înregistrează variaţii asemănătoare celei constatate la absorbţia totală (tabelele nr. 2 şi 3), dependente de vîrstă, iar organele nespecifice absorbante prezintă abateri de la această regulă, cauzate de variabilitatea mare a greutăţii uscate în primele zile de dezvoltare a plantulelor.

MUTANTUL SPELTOID

A. Absorbţia totală

a. La mutantul speltoid apare un proces de creştere ascendentă liniară a *absorbţiei totale pe întreaga plantulă*, dar faţă de martor valorile absolute (la toate orele analizate de noi) sînt mai diminuate, pragul de semnificaţie avînd o valoare de $< 0{,}001$ (tabelul nr. 1). Ritmul absorbţiei scade brusc după 96 de ore, ca şi în cazul martorului.

b. Ritmul absorbţiei totale în *sistemul radicular* după 72 de ore este deja mai scăzut decît al martorului, diferenţa accentuîndu-se şi mai mult la a 6-a zi. Comparativ cu martorul, valorile procentuale relative la absorbţia pe întreaga plantulă (tabelul nr. 2) sînt mai mici. Aportul sistemului radicular nu creşte după 96 de ore, ca la martor. Raportînd absorbţia parţială a rădăcinilor principale, respectiv a celor adventive, la sistemul radicular propriu (tabelul nr. 3), constatăm că valorile relative exprimate în procente se suprapun cu valorile similare ale martorului. Deci, chiar dacă puterea de absorbţie a rădăcinii la mutantul speltoid este mai scăzută (comparativ cu martorul), procesul fiziologic de absorbţie din cadrul celor două grupe de indivizi se desfăşoară în acelaşi mod. Faţă de sistemul radicular al martorului, puterea de absorbţie a speltoidului — între 48 şi 96 de ore — este de circa 50% (tabelul nr. 4). Prelungind perioada de analiză (144 de ore), constatăm că sistemul radicular al speltoidului rămîne şi mai mult în urma capacităţii de absorbţie a martorului.

Tabelul nr. 3

Absorbţia relativă (%) a sistemului radicular

ore după imbibiţie	felul absorbţiei	Martor: rădăcina principală	Martor: rădăcina adventivă	Mutant speltoid: rădăcina principală	Mutant speltoid: rădăcina adventivă
48	totală	47,4	52,6	53,2	46,8
48	specifică	44,9	55,1	54,2	45,8
72	totală	40	60	43,4	56,6
72	specifică	43,6	56,4	46,9	53,1
96	totală	39,6	60,4	44,8	55,2
96	specifică	46,5	53,5	43,7	56,3
144	totală	34,7	65,3	34,6	65,4
144	specifică	31,6	68,4	43,9	56,1

În figura 1 am ilustrat variaţia ritmului absorbţiei totale a sistemului radicular la martor şi la mutantul speltoid în raport cu nivelul absorbţiei atins la 48 de ore după germinare (considerat 100%). Din figură reiese că ritmul de creştere al absorbţiei este asemănător pînă la 96 de ore la ambele grupe de indivizi, pentru ca la 144 de ore să apară diferenţe; ritmul scade brusc atît la rădăcina principală, cît şi la cele adventive în cazul mutantului speltoid. Deci, după 96 de ore de germinaţie, ritmul scăzut se datoreşte, în primul rînd, creşterii şi dezvoltării mai încetinite

Tabelul nr. 4

Absorbţia totală (mg/h) a mutantului speltoid în valori relative faţă de martor (martor = 100)

Ore după imbibiţie	Sistemul radicular	Rădăcina principală	Rădăcina adventivă	Cariopsa	Coleoptilul	Frunza
48	51	57,6	45,7	53,2	100	—
72	52	55,5	49,6	50,1	78,5	—
96	49	55,6	45,1	83,2	16,8	—
144	39	39,3	39,6	90	19,2	100

a sistemului radicular al mutantului speldoid şi în special al rădăcinilor adventive (tabelul nr. 5).

c. *Absorbţia totală a rădăcinii principale* este în ascensiune numai pînă la 96 de ore (reprezentînd 50% din valoarea martorului), după care stagnează (tabelul nr. 1). Absorbţia relativă, în raport cu întreaga plantă, înregistrează o variaţie nesemnificativă pînă la 96 de ore, asemănătoare cu a martorului, pe cînd la 144 de ore această valoare descreşte (tabelul nr. 2).

Dacă comparăm absorbţia rădăcinii principale cu capacitatea de absorbţie a sistemului radicular propriu, se constată aceeaşi tendinţă de descreştere a acesteia ca şi la martor, pe măsura dezvoltării rădăcinilor adventive (tabelul nr. 3), ceea ce ne indică o descreştere a funcţiei acestui organ şi în cazul mutantului speltoid, aşa cum au remarcat şi alţi cercetători la graminee (2). Această afirmaţie este întărită şi de scăderea bruscă a ritmului absorbţiei după 96 de ore. Putem admite şi în cazul mutantului speltoid paralelismul care există între creşterea în greutate a organelor absorbtive şi absorbţia propriu-zisă.

d. *La absorbţia totală a rădăcinilor adventive* se remarcă o ascensiune permanentă a procesului de absorbţie, atît în cazul valorilor absolute (tabelul nr. 1), cît şi în cazul raportării la absorbţia întregii plantule (tabelul nr. 2), precum şi a propriului sistem radicular (tabelul nr. 3). Analizînd ritmul absorbţiei zilnice a rădăcinilor adventive ale mutantului speltoid faţă de martor (tabelul nr. 1), se constată că după 6 zile ritmul este mai încetinit la mutant.

Dacă apelăm la datele privind variaţia lungimii şi greutăţii plantulelor, constatăm că după 6 zile de germinare valorile rădăcinilor adventive

la speltoid cresc nesemnificativ comparativ cu creşterea semnificativă a aceloraşi valori la martor (tabelul nr. 5).

e. Din analiza *absorbţiei totale a organelor nespecifice* absorbante constatăm că fenomenul este identic cu acela semnalat la martor. După 6 zile, aportul acestora la absorbţia întregii plante este de 37%.

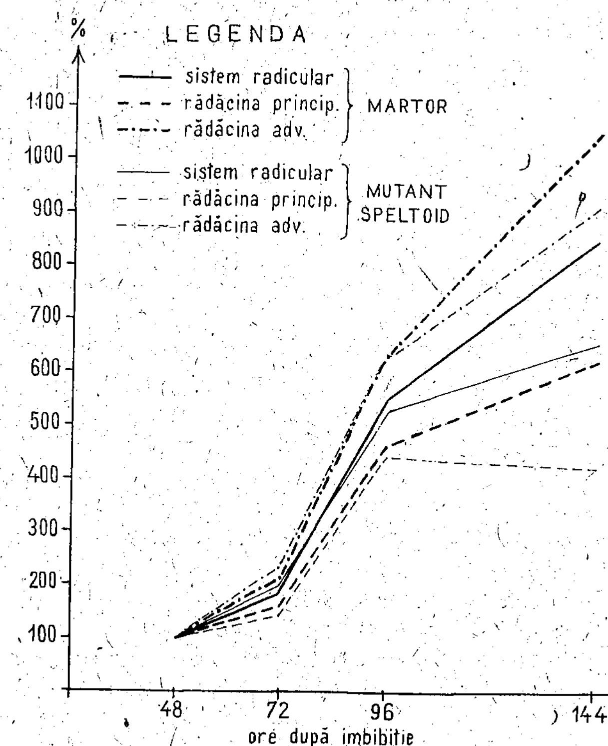


Fig. 1. — Variaţia ritmului absorbţiei totale a sistemului radicular (48 de ore = 100 %).

Urmărirea dezvoltării zonei perişorilor absorbanţi ai rădăcinii principale, ai rădăcinilor adventive, precum şi a creşterii în lungime a acestora a dus la următoarele constatări (tabelul nr. 6):

Tabelul nr. 5

Lungimea şi greutatea plantulelor de grîu (*Triticum aestivum* var. *lutescens*) şi a mutantului speltoid

Ore după imbibiţie	Martor								
	lungimea (mm) X̄			greutatea uscată (mg/plantă)					
	rădăcina principală	coleoptilul	frunza	întreaga plantulă	rădăcina principală	rădăcina adventivă	cariopsa	coleoptilul	frunza
48	8	4,8	—	28,8	0,28	0,24	28,3	0,04	—
72	16,1	18,1	—	2,8	0,42	0,56	0,9	0,96	—
96	39,6	47,1	13	6,99	0,60	0,79	2	2,1	1,5
144	87,3	53,4	48,2	12,3	0,60	1,04	5,5	1,3	3,9

Ore după imbibiţie	Mutant speltoid								
	lungimea (mm) (X̄)			greutatea uscată (mg/plantă)					
	rădăcina principală	coleoptilul	frunza	întreaga plantulă	rădăcina principală	rădăcina adventivă	cariopsa	coleoptilul	frunza
48	3,5	1,5	—	26,8	0,21	0,26	26,3	0,03	—
72	9,1	7	—	1,67	0,30	0,37	0,5	0,5	—
96	28,3	31,7	8	5,4	0,43	0,47	1,6	1,6	1,3
144	39,6	38,3	35	9,5	0,43	0,53	5,2	1,1	2,4

— creșterea în lungime a rădăcinilor principale și a rădăcinilor adventive este diminuată la mutantul speltoid (— 29, respectiv —46,4%);

— lungimea zonei perișorilor absorbanți este mai redusă la rădăcinile speltoidului (cu 50% la rădăcinile adventive);

— numărul perișorilor absorbanți pe unitatea de suprafață este identic cu al martorului, pe cînd lungimea perișorilor întrece semnificativ pe aceea a martorului.

Tabelul nr. 6

Dezvoltarea zonei absorbante a mutantului speltoid în valori relative față de martor (martor = 100) în momentul apariției frunzei

Lungimea rădăcinii principale mm	Lungimea rădăcinii adventive mm	Lungimea zonei perișorilor absorbanți la rădăcina principală mm	Lungimea zonei perișorilor absorbanți la rădăcina adventivă mm	Numărul perișorilori-absorbanți pe unitatea de suprafață la rădăcina principală	Numărul perișorilori-absorbanți pe unitatea de suprafață la rădăcina adventivă	Lungimea perișorilor absorbanți la rădăcina principală mm	Lungimea perișorilor absorbanți la rădăcina adventivă mm
71	53,6	58,7	48	100	100	177	115

CONCLUZII

Analiza capacității de absorbție a plantulelor de grîu hexaploid prin metoda colorimetrării roșului neutru extras din organe ne-a permis evidențierea ritmului de absorbție atît la organele specifice absorbante, cît și la cele nespecifice. După 4 zile de germinație la martor și după 5 zile la mutantul speltoid, se observă procese de morfogeneză importante (diminuarea activității fiziologice a coleoptilului, respectiv a rădăcinilor principale, creșterea masivă a rădăcinilor adventive, precum și un proces de resintetizare și depunere de substanțe de rezervă în sămînță, o dată cu apariția frunzelor). Aceste procese determină schimbări evidente în ritmul de creștere al absorbției zilnice, precum și în ritmul general de creștere al absorbției. În această sincronizarea proceselor morfofuncționale, mutantul speltoid se distinge de martor printr-o temporizare încetinită de circa 1—2 zile în dezvoltarea organelor, care se îmbină și cu o capacitate mai redusă de funcționare a lor. Urmărirea acestui ultim parametru la plantulele mutantului speltoid de grîu, comparativ cu martorul. ne dovedește posibilitatea testării efectului pleiotropic al mutației locusului Q din cromozomul 5 A într-o fază incipientă a dezvoltării ontogenetice. Bazîndu-ne pe observațiile și analizele hibridologice executate de alți autori (3), (5), (10), precum și pe aspectul exterior al mutantului speltoid nearistat, descris în prima parte a lucrării, acceptînd clasificarea speltoizilor propusă de H. Nilsson-Ehle (citat după (4)), încadrăm mutantul speltoid analizat de noi la tipul parțial A, menționînd în plus că analizele citologice nu au evidențiat lipsa vreunui cromozom (convențional notat cu IX) din genomul mutantului. Presupunem că, în cazul mutantului speltoid urmărit, mutația a atins mai mulți mutoni, care fie că intră în acțiune asincron (față de martor), fie că se blochează în întregime. Datele

referitoare la capacitatea de absorbție totală și specifică și testările privind dezvoltarea în lungime și greutate a plantulelor ne dovedesc că efectul genei mutante se manifestă încă de la începutul proceselor de germinare, producînd o diminuare, pe de o parte, a creșterii organelor absorbante, iar pe de altă parte a capacității fiziologice absorbtive a rădăcinilor. S-a constatat că acțiunea de micșorare a absorbției de către gena mutantă se intensifică în timp, permițînd surprinderea etapelor ontogenetice diferite în perioadele incipiente de dezvoltare a plantulelor.

BIBLIOGRAFIE

1. BANERJEE S. K. a. SWAMINATHAN M. S., Indian J. Gen. Plant Breed., 1964, **24**, *3*, 252—263.
2. КРАСОВСКАЯ И. В., Записки Ленингр. с/х ин—та, 1927, **IV**.
3. LI H. W., HSIA C. H. a. LEE C. L., Bot. Bull. Acad. Sinica, 1948, *2*, 243—264.
4. MAC KEY J., Hereditas, 1954, **XL**, 104—127.
5. — Genetica Agraria, 1960, **XII**, *3—4*, 201—215.
6. POP E., SORAN V. și COSMA DORINA, St. și cerc. biol. (Cluj), 1961, *1*, 61—72.
7. SORAN V., St. și cerc. biol. (Cluj), 1959, *2*, 241—266.
8. — St. și cerc. biol. (Cluj), 1959, *1*, 33—56.
9. — St. și cerc. biol. (Cluj), 1960, *1*, 41—65.
10. UCHIKAWA J., Jap. J. Genet., 1946, *21*, 107—180.

Centrul de cercetări biologice Cluj,
Secția de genetică și fiziologie vegetală.

Primit în redacție la 31 ianuarie 1968.

CONTRIBUȚII LA EXTRAGEREA, SEPARAREA ȘI EVIDENȚIEREA ELECTRONOMICROSCOPICĂ A ACIZILOR DEZOXIRIBONUCLEICI DIN CÎTEVA SPECII DE BACTERII FITOPATOGENE

DE

ELVIRA GROU, ANA POPESCU și C. DIMITRIU

576.8.093.1 : 547.963.32 : 581.2

A technique is reported which allows to separate in a simple and easily reproducible way the DNA of three *Agrobacterium tumefaciens* strains and four *Erwinia* species, yielding DNA preparations of up to 95% purity.
The paper is illustrated by electron microscope pictures of DNA isolated from strains B_6 and 26 of *Agrobacterium tumefaciens* and from *Erwinia cytolytica* and *Ervinia carotovora*.

Diversitatea mare a speciilor de microorganisme și a modului de asociere între diferitele componente celulare face ca metodele de separare și purificare a acizilor nucleici descrise să nu fie aplicabile întotdeauna.

J. Marmur (7) descrise un procedeu experimentat pe 50 de specii de microorganisme, care reprezintă punctul de plecare pentru numeroase variante ulterioare de izolare a ADN, în funcție de specie (4), (5).

Lucrarea de față reprezintă o variantă a metodei lui J. Marmur (7), elaborată pentru bacterii fitopatogene din genurile *Agrobacterium* și *Erwinia*, în vederea obținerii unor preparate de ADN cu un grad de polimerizare și puritate satisfăcătoare pentru cercetări de taxonomie, infectivitate și genetică bacteriană.

MATERIALE ȘI METODE

S-a lucrat cu bacterii din speciile:

Agrobacterium tumefaciens (Smith et Town.) Conn — tulpinile B_6 (colecția dr. P. Manigault — Institutul Pasteur, Paris), 6 și 26 (colecția dr. Ch. Bonnier — Institutul agronomic, Gembloux);

Erwinia aroideae (Town.) Holland — tulpina A_{81V},

Erwinia atroseptica (van Hall) Jennison — tulpina $SR_{8/2}$ și

Erwinia carotovora (Jones) Holland — tulpina G_{117} (toate din colecţia dr. D. C. Graham — Agricultural Scientific Services, Edinburgh);

Erwinia cytolytica Chester — tulpina 6 (colecţia Laboratorului de bacteriologie — Institutul de biologie „Traian Săvulescu").

Bacteriile respective au fost crescute pe mediu de cultură cu extract de porumb (6) sau Bacto-beef extract „Difco"- peptonă — glucoză — agar. Masa bacteriană s-a recoltat spre sfîrşitul fazei logaritmice de creştere (peste 48 de ore), după menţinerea în incubator la 27°C.

Efectuînd numeroase încercări de a izola şi separa ADN din speciile bacteriene menţionate, am stabilit un mod de lucru care conduce la preparate cu puritate şi randament corespunzător, pe care-l prezentăm în cele ce urmează.

Pentru lizarea celulei bacteriene, cel mai convenabil agent s-a dovedit a fi amestecul de EDTA 0,1 M cu dodecil-sulfat de sodiu 25% (15 g suspensie bacteriană + 100 ml EDTA + 7 ml dodecil-sulfat), incubare 2 — 24 de ore la 37—40°C; aspectul translucid al amestecului este un indiciu că liza a avut loc.

Deproteinizarea s-a făcut alternativ cu cloroform — alcool izoamilic (24 : 1) şi cloroform-octanol (24 : 1, v/v).

Firele de acizi nucleici le-am dizolvat de fiecare dată într-un amestec de volume egale de 0,0015 M citrat de sodiu şi 0,015 M NaCl, a cărui molaritate s-a mărit de 10 ori, adăugînd, în proporţie de 1 : 9, amestec de volume egale de 0,15 M citrat de sodiu şi 1,5 M NaCl.

ADN a fost separat de ARN prin precipitare repetată cu etoxietanol şi deproteinizare cu amestec de cloroform — alcool izoamilic (24 : 1).

Pe tot parcursul determinărilor s-a urmărit deproteinizarea prin reacţia biuret şi ninhidrină, iar prezenţa ADN cu reacţia Dische.

La preparatele ADN au fost examinate spectrele de absorbţie în ultraviolet la un spectrofotometru sovietic tip SF-4, precum şi imaginea electronomicroscopică la un microscop JEM—7, cu apertura de 30 μ.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Prima etapă importantă pentru obţinerea de acizi nucleici o constituie dezintegrarea peretelui celular bacterian. Ca agenţi lizogeni am încercat comparativ dezoxicolatul de sodiu 2% indicat de O. T. Avery şi colaboratori (1), dodecil-sulfatul de sodiu în concentraţie de 1%, neasociat cu percloratul de sodiu, aşa cum recomandă J. Marmur (7), sau cu 4-amino-salicilatul, după P. D. Lawley şi P. Brooks (citaţi după (2)), şi amestecul de EDTA — dodecil-sulfat de sodiu, folosit de L. Iancu şi N. Fessler (5) pentru *Escherichia coli* M.

Pentru bacteriile din specia *Agrobacterium tumefaciens*, atît dodecil-sulfatul de sodiu 2%, cît şi amestecul de EDTA — dodecil-sulfat de sodiu au permis separarea acizilor nucleici sub formă de fire; la speciile genului *Erwinia*, obţinerea de fire nu a fost posibilă decît în urma tratării cu amestec de EDTA — dodecil-sulfat de sodiu.

Menţionăm că incubarea la temperatura de 37°C, recomandată de toţi autorii pentru desfăşurarea procesului de liză, în cazul bacteriilor din genul *Erwinia* nu a fost eficientă. Menţinerea la o temperatură mai ridicată, care să nu depăşească totuşi 40°C, a favorizat liza celulei.

Pentru deproteinizarea acizilor nucleici am folosit comparativ amestecul de cloroform — alcool izoamilic (7) şi cloroform — octanol (2). Am constatat că utilizarea alternativă a acestora, şi nu separat, cum preconizează unii dintre autorii citaţi, grăbeşte deproteinizarea şi, în acelaşi timp, reduce mult contaminarea cu proteine a acizilor nucleici pentru speciile luate în studiu.

Asupra amestecului de citrat salin, folosit pentru dizolvarea firelor de acizi nucleici, sînt indicaţii cu privire la molaritate şi pH, fără nici o precizare asupra raportului dintre componente. Amestecul de părţi egale de citrat trisodic — clorură de sodiu de molaritatea arătată anterior, folosit de noi, a asigurat o dizolvare totală şi rapidă a firelor de ADN.

În ceea ce priveşte separarea ADN de ARN, spre deosebire de J. Marmur (7), care recomandă incubarea cu RN-ază la 37°C, am folosit, după indicaţia lui P. D. Lawley şi P. Brooks (citaţi după (2)), etoxietanolul, care precipită ADN.

Repetînd operaţia de precipitare cu etoxietanol de 2—3 ori, înlăturarea ARN a fost satisfăcătoare.

Cantitatea de ADN separată, raportată la masa bacteriană luată în lucru, a fost aproximativ de 1 mg/g.

La preparatele de ADN au fost examinate spectrele de absorbţie în ultraviolet şi imaginea electronomicroscopică (pl. I, II şi III).

Determinarea maximului de absorbţie la 260 mμ constituie o dovadă că în preparatele respective componenta principală este acidul dezoxiribonucleic. Valoarea raportului $\frac{E_{280}}{E_{260}}$, care a variat între 0,50 şi 0,56, arată o puritate de pînă la 95%.

Au fost examinate la microscopul electronic preparatele de ADN separate de la *Agrobacterium tumefaciens*, tulpinile B_6 şi 26, şi de la *Erwinia cytolytica*. Pentru aceasta, suspensia de ADN în clorură de sodiu 0,15 M a fost pulverizată fin pe grile cu membrană de parlodion sau formvar, pe care era depus un strat de carbon prin evaporare în vid (3). Pulverizarea suspensiei pe grile acoperite cu carbon a permis o mai bună desfacere şi alunecare a firelor de ADN. Umbrirea s-a făcut la un unghi de 12—17° sub vid, cu platină — paladiu, de pe un filament în formă de W, aşezat la aproximativ 8 cm distanţă.

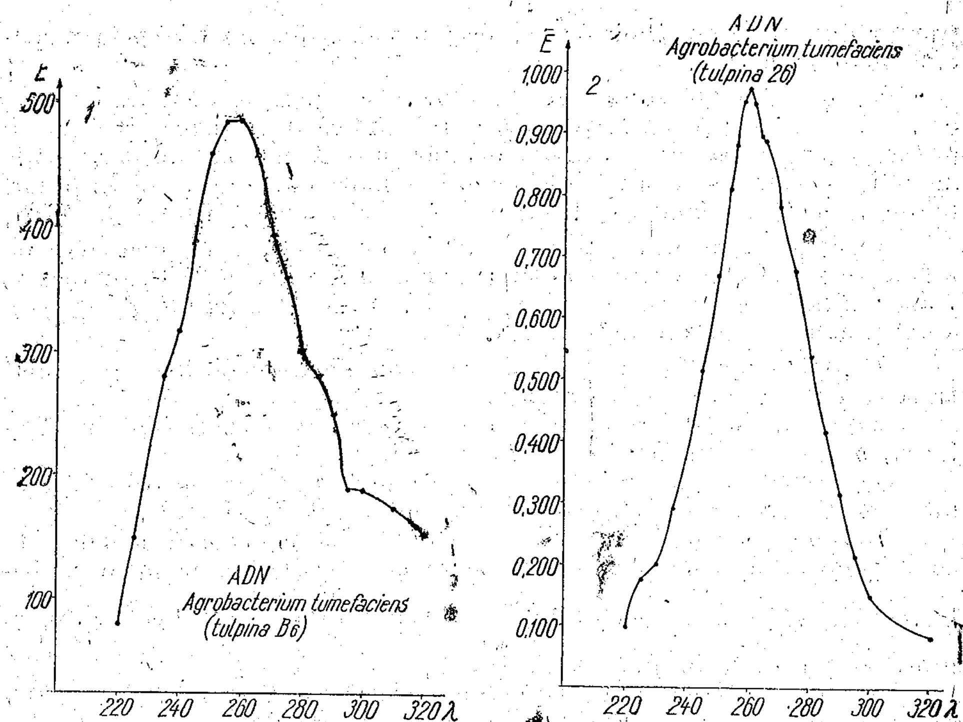
Imaginile obţinute arată că ADN din preparate se găseşte sub formă de fire lungi, puţin ramificate. Pe unele dintre imaginile fotografiate s-au efectuat determinări ale grosimii firului. Calculele au fost făcute cu ajutorul formulei:

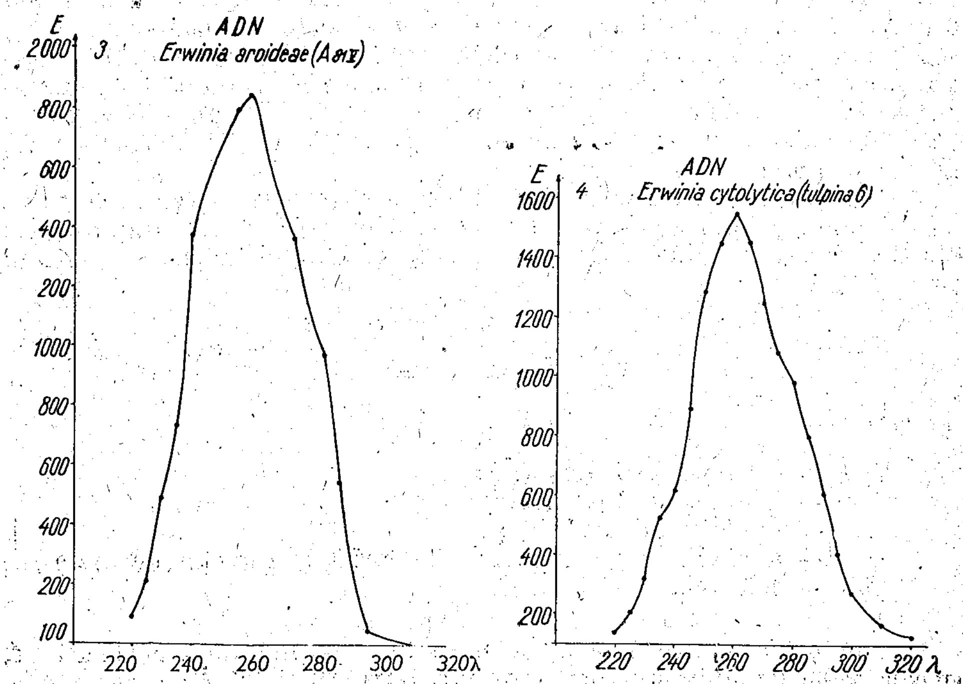
$$\Phi = l\,\frac{\operatorname{tg}\alpha}{\cos\gamma}\cdot\frac{10^7}{M}$$

în care:

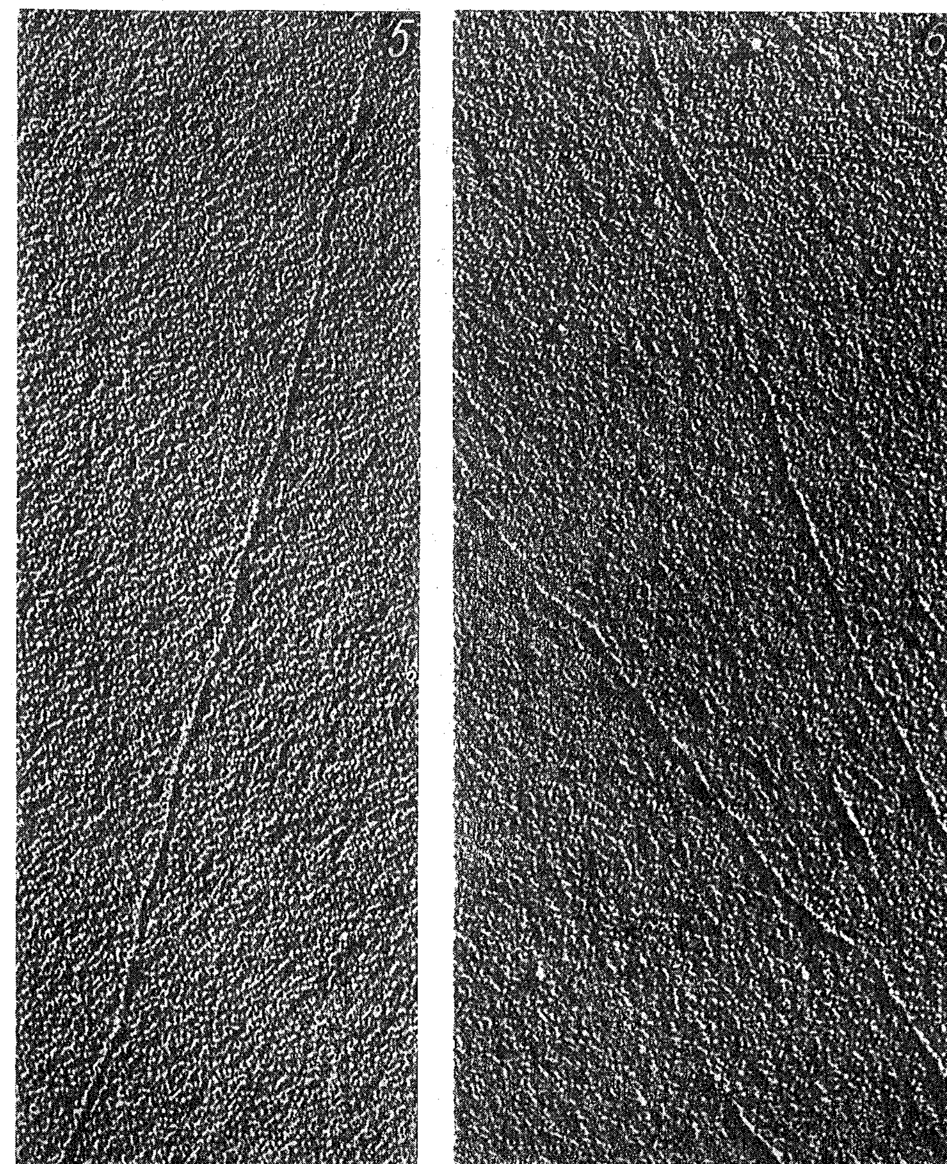
Φ este diametrul firului (Å);
l — lăţimea umbrei (mm);
α — unghiul de umbrire;
γ — unghiul dintre normala la curbă şi direcţia de umbrire;
M — mărirea.

Au fost efectuate cîte cinci măsurători pe lungimea aceluiaşi fir, media valorilor obţinute fiind cuprinsă între 18 şi 27 Å; eroarea care intervine datorită măsurătorilor este de ±5Å.





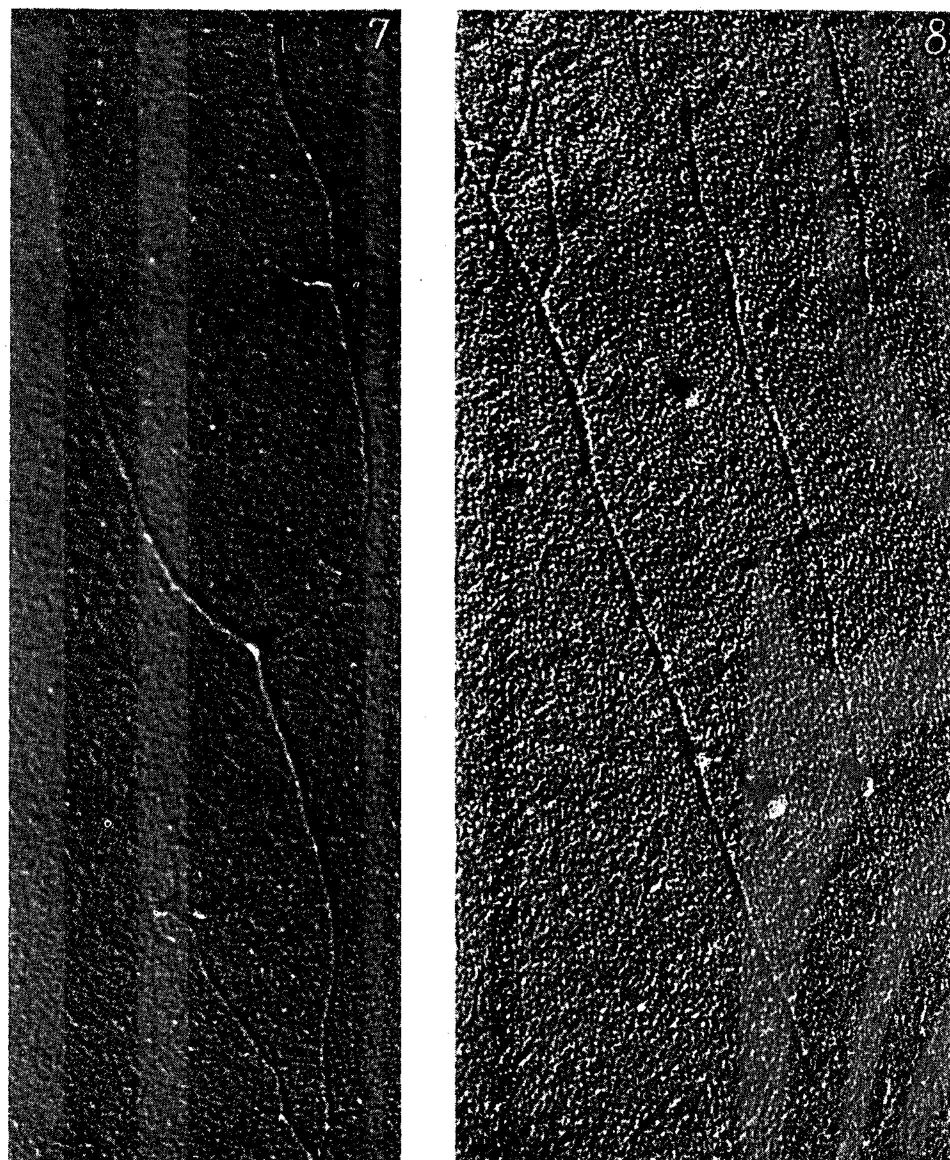
Spectrele de absorbţie ale preparatelor de ADN (1—4).



Imagini electronomicroscopice ale ADN izolat din:

5. — *Agrobacterium tumefaciens* — tulpina B_6 (membrană: parlodion + carbon; umbrire: Pt/Pd; unghi 12°; mărire totală: 79 200 ×).

6. — *A. tumefaciens* — tulpina 26 (membrană: parlodion + carbon; umbrire: Pt/Pd; unghi 12°; mărire totală: 70 000 ×).



Imagini electronomicroscopice ale ADN izolat din :

7. — *Erwinia carotovora* — tulpina G_{117} (membrană : parlodion + carbon ; umbrire : Pt/Pd ; unghi 12° ; mărire totală : 52 500 ×).

8. — *E. cytolytica* — tulpina 6 (membrană : formvar + carbon ; umbrire : Pt/Pd ; unghi 12° ; mărire totală : 116 000 ×).

CONCLUZII

Se propune o tehnică simplă, care nu necesită reactivi şi aparatură specială pentru extragerea şi separarea ADN din bacteriile fitopatogene aparţinînd genurilor *Agrobacterium* şi *Erwinia*.

Analiza spectrofotometrică confirmă că tehnica utilizată este corespunzătoare obţinerii de preparate de ADN de puritate mare, iar imaginile electronomicroscopice ne arată că ADN respectiv se găseşte sub formă de fire lungi, neramificate, cu grosime apropiată de cea indicată în literatura de specialitate.

BIBLIOGRAFIE

1. Avery O. T., McLeod C. M. a. McCarty M. J., J. exp. Med., 1944, **79**, 137.
2. Davidson J. N. a. Cohn E. W., *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, Acad. Press, New York şi Londra, 1964.
3. Hall E. C., *Introduction to Electron Microscopy*, McGraw-Hill Inc., New York, 1966, ed. a II-a.
4. Heberlein G. T., Deley J. a. Tijtgat R., J. Bact., 1967, **94**, *1*, 116.
5. Iancu L. şi Fessler N., Microbiologia, parazitologia, epidemiologia, 1965, **X**, *2*, 173.
6. Lazăr I., Com. Acad. R.P.R., 1959, **IX**, *2*, 151.
7. Marmur J., J. mol. Biol., 1961, **3**, *2*, 208.

Institutul de biologie „Traian Săvulescu", Sectorul de virusuri şi bacterii.

Primit în redacţie la 4 mai 1968.

CERCETĂRI ASUPRA BIOTIPURILOR CIUPERCII *PHYTOPHTHORA INFESTANS* (MONT.) DE BY. DE PE CARTOF DIN ROMÂNIA

DE

A. PUŞCAŞU

582.281.144

Le travail contient les résultats des expériences effectués entre 1964–1967 en vue d'établir les biotypes du champignon *Phytophthora infestans* des cultures de pomme de terre de Roumanie.
Jusqu'à présent 6 biotypes ont été mis en évidence, à savoir : 0 ; 4 ; 1.4 ; 3 ; 1.3 et 1.3.4. Le biotype 4 est plus répandu et, moins répandu et seulement au cours des dernières années, le biotype 1.4. Le biotype 0 a été dépisté seulement en 1964 dans deux localités du Nord de la Moldavie. Les autres biotypes ont été mis en évidence les dernières années et seulement dans les champs d'amélioration des stations de Braşov et de Suceava.

Problema biotipurilor la ciuperca *Phytophthora infestans* a fost pusă pentru prima dată de către K. O. Müller (6) şi R. Schick (9), care au observat apariţia, în anul 1932, în culturile de cartof din diferite regiuni ale Germaniei, a unui nou biotip al ciupercii, mai virulent, pe care l-au denumit, după locul de origine — Streckenthin —, biotipul S. După K. O. Müller (7), acest biotip a fost depistat numai în regiunile unde s-au cultivat un timp mai îndelungat „rasele'' W de cartof (hibrizi cu *Solanum demissum*).

În anul următor, O'Connor (citat după (5)) pune în evidenţă noi biotipuri ale ciupercii în Anglia, tot pe hibrizi de *Solanum tuberosum* cu *S. demissum*. Numărul biotipurilor descrise pe cartof de diferiţi autori a crescut apoi an de an, ajungînd la 13 pînă în anul 1953. În acest an, W. Black, C. Mastenbroek, W. R. Mills şi L. C. Peterson (1) cuprind într-o schemă unică toate aceste biotipuri, creînd astfel o nomenclatură internaţională a biotipurilor de pe cartof ale acestei ciuperci. Ulterior au mai fost depistate şi alte biotipuri, numărul biotipurilor ciupercii *Phytophthora infestans* de pe cartof ridicîndu-se în prezent la cel puţin 17.

În ţara noastră, experienţele pentru depistarea şi stabilirea răspîndirii biotipurilor acestei ciuperci au început în anul 1964; rezultatele obţinute în această direcţie pînă în prezent sînt prezentate în lucrarea de faţă.

MATERIAL ŞI METODĂ DE LUCRU

Pentru punerea în evidenţă a biotipurilor ciupercii care au atacat culturile de cartof în anii de cercetare (1964–1967), s-au recoltat probe de vreji sau tuberculi atacaţi din 72 de localităţi din ţară, situate în 21 de judeţe. După cum se vede din figura 1, majoritatea acestor localităţi sînt situate în zona foarte favorabilă culturii cartofului şi în zona muntoasă, zone caracterizate prin precipitaţii ridicate şi temperaturi mai scăzute (4), condiţii care sînt favorabile dezvoltării acestei ciuperci. Din unele dintre aceste localităţi s-au recoltat probe în fiecare an, iar dintr-altele numai în unul sau doi ani.

Izolarea şi înmulţirea provenienţelor de ciupercă recoltate s-au făcut pe felii de tuberculi de cartof din soiul Mittelfrühe, dezinfectaţi în prealabil cu clorură mercurică 1‰ timp de 10 min.; puse în vase Petri căptuşite cu hîrtie de filtru, unectată cu apă sterilizată. Pentru dezvoltarea ciupercii, vasele au fost trecute apoi la temperatura de 18–20°C.

Pentru determinarea biotipurilor din provenienţele izolate, cu fiecare din acestea s-au făcut infecţii experimentale, repetate de minimum trei ori, pe un sortiment-test internaţional, format din hibrizi de *Solanum demissum*, primit de la Institutul pentru cultura plantelor din Gross-Lüsewitz (R.D. Germană). Infecţiile s-au făcut cu o suspensie concentrată de conidii, preparată în apă distilată şi care a fost ţinută 2–3 ore la temperatura de 8–12°C, pentru germinarea conidiilor prin formarea de zoospori. Foliolele detaşate de pe plantele din sortimentul-test s-au infectat prin metoda picăturilor, descrisă de K.O. Müller şi apoi de O. Vowinckel (citat după (5)), metodă care constă din următoarele: în vase Petri căptuşite cu hîrtie de filtru umectată, se aşază foliolele cu faţa inferioară în sus; pe fiecare foliolă se pipetează apoi cîte o picătură de suspensie, după care vasele se trec la temperatura de 18–20°C (fig. 2). După 24 de ore, foliolele se întorc cu faţa superioară în sus. Notarea atacului, s-a făcut după 6 zile de la data infectării.

Rezultatele infecţiilor, raportate la schema internaţională a lui W. Black, C. Mastenbroek, W.R. Mills şi L.C. Peterson (1), ne-au permis să determinăm biotipul din fiecare provenienţă de ciupercă izolată şi introdusă în experimentare.

REZULTATELE OBŢINUTE

Din tabelul nr. 1, ca şi din figura 1, se observă că în toţi anii de experimentare în culturile de cartof din ţară atacate de mană a predominat biotipul 4 al ciupercii, biotip care practic este răspunzător de atacul de mană din culturile de cartof din aceşti ani. Acest biotip a fost pus în evidenţă singur sau în amestec în majoritatea probelor analizate; în anii 1964, 1965 şi 1966 a fost depistat întotdeauna singur, iar în anul 1967 a fost găsit şi în amestec, în special cu biotipul 1.4.

După cum se vede din acelaşi tabel, în afară de biotipul 4, în anul 1964 a mai fost pus în evidenţă şi biotipul iniţial al ciupercii — biotipul 0 —, care a fost evidenţiat însă numai în culturile de cartof din două localităţi din nordul Moldovei (fig. 1). În anii următori, acest biotip nu a mai fost însă depistat nici în această regiune şi nici în restul ţării.

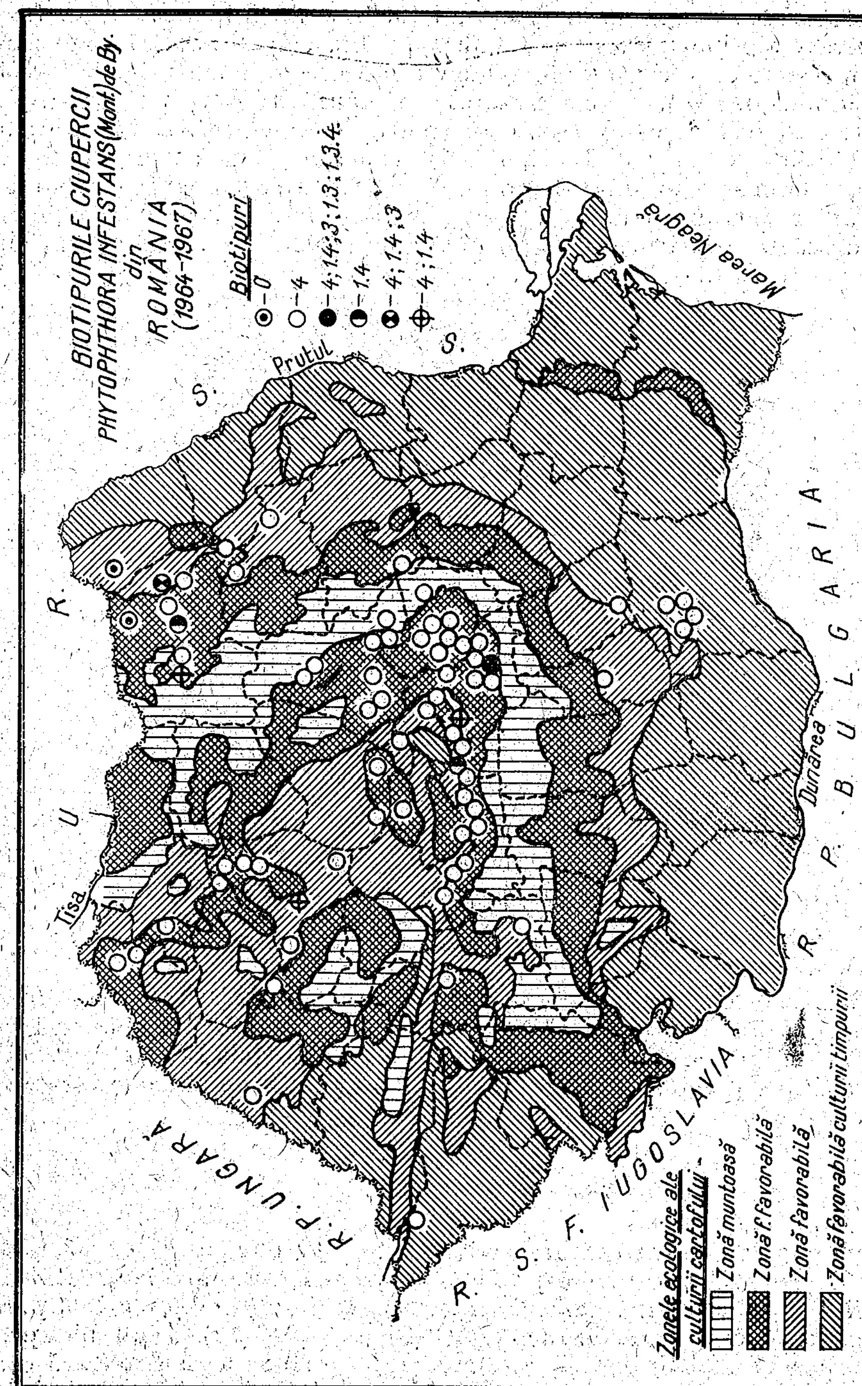


Fig. 1.

În anul 1966 şi, în special, în anul 1967, pe lîngă biotipul 4, au fost găsite şi alte biotipuri, şi anume 1.4; 3; 1.3 şi 1.3.4. Toate acestea, cu excepţia biotipului 1.4, au fost puse în evidenţă însă numai în culturile de cartof ale staţiunilor de ameliorare a cartofului, şi anume la Braşov şi Suceava; la Braşov au fost depistate toate biotipurile enumerate, iar la Suceava numai biotipurile 1.4 şi 3. Biotipul 1.4, evidenţiat pentru prima dată în ţară, după cum se vede din tabelul nr. 1, în anul 1966 numai în cîmpul de ameliorare a cartofului de la Braşov, în anul 1967 a avut o răspîndire destul de mare atît în cadrul staţiunilor de ameliorare a cartofului, cît

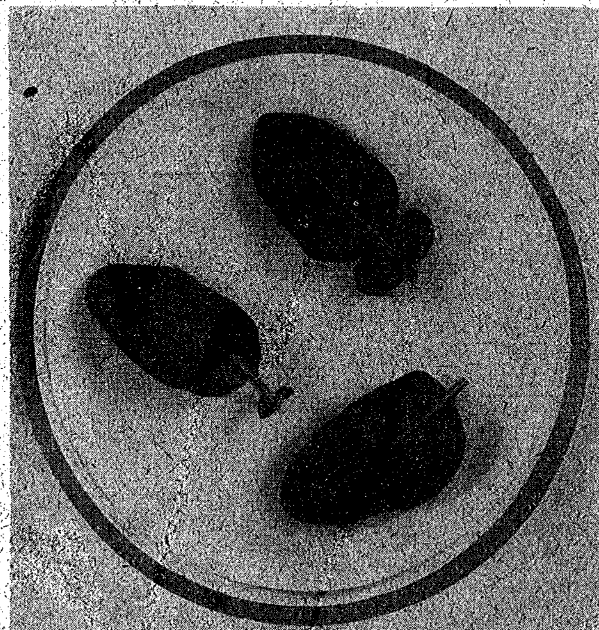


Fig. 2. — Infecţii prin metoda picăturilor.

şi în culturile de cartof din localităţile învecinate. În majoritatea cazurilor, acest biotip a fost depistat însă în amestec cu biotipul 4. Răspîndirea biotipului 1.4 se limitează pînă în prezent numai la judeţele Braşov, Suceava şi Cluj, adică la judeţele în care sînt situate staţiunile de ameliorare a cartofului.

DISCUŢII ŞI CONCLUZII

Din rezultatele prezentate reiese că în România, ca şi în celelalte ţări din Europa în prezent răspîndirea cea mai mare o are biotipul 4 al ciupercii *Phytophthora infestans*, care face parte din aşa-numitele biotipuri de cîmp, cu o mare rază de răspîndire (2), (3), (8), (10). Acest biotip a fost pus în evidenţă de noi şi în cîteva suşe de ciupercă izolate încă din anii 1957 şi 1958, fapt care denotă că biotipul 4 al ciupercii este mai de mult introdus în ţară.

Răspîndirea acestui biotip şi în ţara noastră, care, după cum se vede, a luat locul celui iniţial (0), nu poate fi pusă pe seama introducerii în cultura mare a unor soiuri de cartof rezistente la biotipul 0 al ciupercii, deoarece toate soiurile de cartof raionate pînă în prezent în ţară sînt sensibile faţă de acesta. Răspîndirea mai largă a biotipului 4 s-ar putea însă motiva prin alţi factori, printre care, pe de o parte, virulenţa şi agresivitatea mai mare a acestuia faţă de biotipul 0, fapt care face ca în concurenţa dintre acestea biotipul 4 să aibă prioritate. Apoi este posibil ca biotipul 4 să fie mai bine adaptat la temperaturi mai ridicate şi totodată şi la viaţa în condiţii saprofite. Rămîne ca în cercetările ulterioare să stabilim care dintre aceşti factori joacă un rol mai important în competiţia dintre biotipuri în ţara noastră.

Absenţa completă în ultimii ani a biotipului 0 din culturile de cartof din ţara noastră este, de asemenea, în conformitate cu situaţia din celelalte ţări, unde acest biotip este întîlnit din ce în ce mai rar (2), (8), fiind probabil pe cale de dispariţie.

Dintre celelalte biotipuri care au fost depistate la noi, o răspîndire mai mare în Europa o are numai biotipul 1.4 (8), care, după cum s-a văzut, a început să se răspîndească din ce în ce mai mult şi în culturile de cartof din ţara noastră. Biotipurile 3; 1.3 şi 1.3.4, depistate abia în anul 1967,

Tabelul nr. 1

Biotipurile ciupercii *Phytophthora infestans* (Mont.) de By. din România

Judeţul	Biotipuri			
	anul			
	1964	1965	1966	1967
Botoşani	0			
Iaşi				4
Suceava	0; 4	4	4	4; 1.4; 3
Neamţ	4			4
Bacău				4
Harghita	4	4	4	
Covasna	4		4	4
Maramureş			4	
Mureş	4	4	0	
Braşov	4	4	4; 1.4	4; 1.4; 3; 1.3; 1.3.4
Ilfov				4
Dîmboviţa	4			
Satu Mare		4		
Sălaj		4		
Cluj	4	4	4	4; 1.4
Alba		4		
Sibiu	4	4	4	4
Bihor	4			
Hunedoara	4			
Timiş	4			
Prahova				4

au în general, chiar în ţările în care au fost puse în evidenţă pentru prima dată cu mulţi ani în urmă, o răspîndire limitată, manifestîndu-se numai acolo unde se cultivă soiuri de cartof cu genotipuri corespunzătoare.

De aici rezultă că biotipurile care trebuie să stea în prezent în atenţia amelioratorilor cartofului din ţara noastră sînt biotipurile 4 şi 1.4. Deci,

în ameliorarea cartofului, în ceea ce priveşte rezistenţa la mană, laboratoarele de ameliorare de sub egida Institutului de cercetări pentru cultura cartofului şi a sfeclei de zahăr trebuie să urmărească crearea de soiuri de cartof rezistente în special la aceste două biotipuri.

BIBLIOGRAFIE

1. BLACK W., MASTENBROEK C., MILLS W. R. a. PETERSON L. C., Euphytica, 1953, *2*, 173–179.
2. БУКАСОВ С. М. и КАМЕРАЗ А. Я., *Основы селекции картофеля*, Сельхозгиз, Москва — Ленинград, 1959.
3. CHITZANIDIS ANNA, Phytopath. Zeitschr., 1960, **40**, *1*, 1–34.
4. CONSTANTINESCU E., BERINDEI M., TORJE D. şi PERCEALI GH., *Cultura cartofului*, Edit. agrosilvică, Bucureşti, 1965, 7–9.
5. HOFFMANN G. M., *Die Kartoffel*, VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin, 1962, **2**, 1168–1185.
6. MÜLLER K. O., Angew. Bot., 1932, **15**, 84–96.
7. — Züchter, 1935, **7**, 5–12.
8. ROGUSKI K., Ameliorarea şi producerea cartofului de sămînţă, anexă la Revista internaţională pentru agricultură, Bucureşti, 1964, Supliment I, 16–27.
9. SCHICK R., Züchter, 1932, **4**, 233–237.
10. SCHICK R., SCHICK E. u. HAUSSDÖRFER M., Phytopath. Zeitschr., 1958, **31**, 225–236.

Institutul de biologie „Traian Săvulescu", Sectorul de micologie.

Primit în redacţie la 29 mai 1968.

Revista „Studii şi cercetări de biologie — Seria botanică" — publică articole originale din toate domeniile biologiei vegetale: morfologie, sistematică, geobotanică, ecologie şi fiziologie, genetică, microbiologie — fitopatologie. Sumarele revistei sînt completate cu alte rubrici ca: 1. *Viaţa ştiinţifică*, ce cuprinde unele manifestări ştiinţifice din domeniul biologiei vegetale, ca simpozioane, consfătuiri, schimburi de experienţă între cercetătorii români şi străini etc. 2. *Recenzii* ale unor lucrări de specialitate apărute în ţară şi peste hotare.

NOTĂ CĂTRE AUTORI

Autorii sînt rugaţi să înainteze articolele, notele şi recenziile dactilografiate la două rînduri. Tabelele vor fi dactilografiate pe pagini separate, iar diagramele vor fi executate în tuş, pe hîrtie de calc. Tabelele şi ilustraţiile vor fi numerotate cu cifre arabe. Figurile din planşe vor fi numerotate în continuarea celor din text. Se va evita repetarea aceloraşi date în text, tabele şi grafice. Explicaţia figurilor va fi dactilografiată pe pagină separată. Citarea bibliografiei în text se va face în ordinea numerelor. Numele autorilor va fi precedat de iniţială. Titlurile revistelor citate în bibliografie vor fi prescurtate conform uzanţelor internaţionale.

Autorii au dreptul la un număr de 50 de extrase, gratuit.

Responsabilitatea asupra conţinutului articolelor revine în exclusivitate autorilor.

Corespondenţa privind manuscrisele, schimbul de publicaţii etc. se va trimite pe adresa Comitetului de redacţie, Splaiul Independenţei, nr. 296, Bucureşti.

La revue « Studii şi cercetări de biologie — Seria botanică » paraît 6 fois par an.

Le prix d'un abonnement annuel est de $.4; — FF.20; — DM.16.

Toute commande à l'étranger sera adressée à CARTIMEX, Boîte postale 134—135 Bucarest, Roumanie ou à ses représentants à l'étranger.

En Roumanie, vous pourrez vous abonner par les bureaux de poste ou chez votre facteur.